

В. А. ПАРНЕС

В ПОИСКАХ ВИРУСА РАКА



ИЗДАТЕЛЬСТВО НАУНА

АКАДЕМИЯ НАУК СССР

Серия «Современные тенденции развития науки»

В. А. ПАРНЕС

**В ПОИСКАХ
ВИРУСА РАКА**



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

Москва 1974

В последние годы среди многих факторов, вызывающих рак, особое внимание ученых привлекли опухолеродные вирусы. Среди них вирусы земноводных, пресмыкающихся, птиц, млекопитающих (в том числе человека). Как были обнаружены эти вирусы, как действуют они на клетку, действительно ли они вызывают рак, какие перспективы открывает изучение опухолеродных вирусов для выяснения сущности ракового процесса и борьбы с ним — всем этим вопросам посвящена книга, рассчитанная на широкий круг читателей, интересующихся достижениями науки.

ПРЕДИСЛОВИЕ

В последние годы вопрос о роли вирусов в происхождении опухолей привлек к себе всеобщее внимание. В журналах и даже газетах появилось немало статей на эту тему. Многих интересует, есть ли вирус рака человека, как ведутся его поиски, к чему они привели и каковы дальнейшие перспективы. Однако до сих пор у нас нет популярной книги, которая помогла бы любознательному читателю, не специалисту, разобраться в существе этой сложной проблемы. Стремясь в какой-то мере пополнить пробел, мы остановились лишь на одном вопросе — на поисках опухолеродных вирусов. Почему сделан такой выбор?

Известно, что опухолеродные вирусы существуют и вызывают природные опухоли у лягушек, птиц, грызунов, домашних животных и обезьян. Человек, конечно, не является исключением. Но до сих пор не выделен вирус, вызывающий у него рак. Выявление причинного фактора заболевания — это всегда центральное звено в борьбе с ним. Пока он не найден, ученые продвигаются ощупью по лабиринтам проблемы, его обнаружение дает им в руки «нить Ариадны» и позволяет идти к цели быстро и уверенно.

В настоящее время о различных опухолеродных вирусах имеется так много данных, что они составляют особую ветвь науки, именуемую онковирусологией¹. В эту книгу включены лишь те сведения о вирусах, без которых невозможно оценить достижения и неудачи поиска возбудителя рака человека².

¹ По-гречески «онкос» — опухоль, «логос» — наука.

² В списке литературы приводится ряд источников, охватывающих более обширный и разносторонний материал о вирусах.

В онковирусологии, как и в каждой бурно развивающейся науке, наряду с твердо устоявшимися представлениями есть много спорного. Оно-то и составляет главное содержание книги. В отличие от учебника или пособия на ее страницах читатель нередко встретит вопросы, которые еще не решены или не получили однозначных ответов. Зачем мы останавливаемся на них? Для науки и постановка вопроса значит очень много. Чтобы он возник, нужен определенный уровень знаний. Только сформулировав вопрос, можно провести эксперимент.

Несколько слов об общей структуре книги. Первые три главы вводят читателя в содержание проблемы. В них объясняется большинство используемых терминов. При первом упоминании термины выделены курсивом. Начиная с четвертой главы текст усложняется. Последние разделы посвящены общетеоретическим вопросам, во многом определяющим направление исследований.

Петитом выделены некоторые наиболее сложные методы и детали, ознакомление с которыми не обязательно для основной нити повествования. Таким образом, петит адресован более подготовленному читателю.

К книге прилагаются небольшой словарь терминов и список литературы, рекомендуемой читателю, который пожелает ознакомиться с дополнительным материалом.

Автор сочтет свой труд ненепростым, если книга в какой-то степени раскроет усилия ученых, направленные на разрешение загадки рака, и покажет, что наука медленно, но неуклонно приближается к победе над ним.

Автор выражает свою признательность за критический просмотр книги профессорам В. И. Иванову, И. А. Рапорту, В. П. Эфроимсону, кандидатам биологических наук Л. Г. Азовой, Я. А. Парнесу и М. А. Шлянкевичу и за помощь в работе над ней — Ц. Н. Загальской, Е. В. Леонтьевой, Д. М. Левиной, Е. Д. Чхатарашвили, М. А. Белкиной, а также сотрудникам Государственной библиотеки СССР имени В. И. Ленина О. Н. Андриановой и В. А. Суховерко.

Он также благодарит всех советских и зарубежных коллег, которые в ответ на его просьбу прислали свои фотографии, биографические материалы и последние статьи и доклады как опубликованные, так и находящиеся еще в печати.

Замечательному ученому
Николаю Федоровичу ГАМАЛЕЯ
посвящаю

НЕМНОГО ИСТОРИИ

Бывают события, которые оставляют след на долгие годы, а иногда и на всю жизнь. Таким событием явилась для меня конференция по раку. Попала я на нее совершенно случайно вместе со своим дядей врачом. Шел 1937 год. В анатомической аудитории Первого московского медицинского института собрались ученые, врачи, студенты. По докладам профессоров Михаила Михайловича Невядомского и Льва Манусовича Шабада, посвященным происхождению рака, развернулись горячие прения.

Невядомский считал, что злокачественные опухоли вызываются микроскопическими паразитами, которые проникают в организм из внешней среды. Подробно изложив литературные данные в пользу паразитарного происхождения рака, Невядомский закончил доклад демонстрацией собственных экспериментов. Но они-то как раз оказались самым слабым местом его сообщения и подверглись уничтожающей критике.

Шабад был сторонником «химической теории», согласно которой причиной рака являются особые химические вещества, называемые *канцерогенами*¹.

Уже давно установлено, что такие вещества, как печная сажа, деготь, многие продукты переработки каменного угля и нефти, анилин и его производные, вызывают рак, т. е. являются канцерогенными. Их открытие связано с изучением рака у трубочистов.

В своем докладе Шабад доказывал существование канцерогенных веществ, образующихся в самом организме, — явление, установленное им впервые в мировой науке. Это расширяло рамки химической теории. Но и тут нашлись противники, которые считали, что химические и физиче-

¹ Канцерогены — вещества, порождающие рак (от латинского слова «канцер» — рак и греческого «генос», «гения» — род, рождение).

ские воздействия не являются первопричиной злокачественного роста, а лишь факторами, способствующими ему. Настоящая же причина — необратимые изменения наследственного аппарата — *мутации*, которые могут возникать в любой клетке тела. Потомство такой клетки наследует злокачественные свойства. Быстро размножаясь, клетки образуют опухолевый узел, прорастающий в близлежащие ткани.

Неподготовленный слушатель вряд ли мог понять, что ближе к истине. Идя домой, я восстанавливала в памяти весь ход дискуссии. Но ясность не приходила. Почему, например, аудитория столь дружно отвергла паразитарную теорию?

По всей видимости, опыты Невядомского уязвимы. Однако, обосновывая свои взгляды, он учитывал и данные американских ученых, выявивших вирусы злокачественных опухолей птиц и животных. Мне они показались убедительными.

В 1910 г. американский ученый Пейтон Раус использовал при работе с саркомой кур *перевивку*², или пересадку опухолевых клеток от одного животного другому. Этот метод с 1878 г., со времени исследований русского ученого Мстислава Александровича Новинского, стал применяться во всем мире. Опыты по прививке опухолей трудны. Организм обладает системой защиты, которая проявляется в реакциях иммунитета, ведущих к отторжению и рассасыванию привитых клеток. Но злокачественные клетки растут очень быстро и введенные в большом количестве могут преодолеть защитные силы организма и дать начало опухоли.

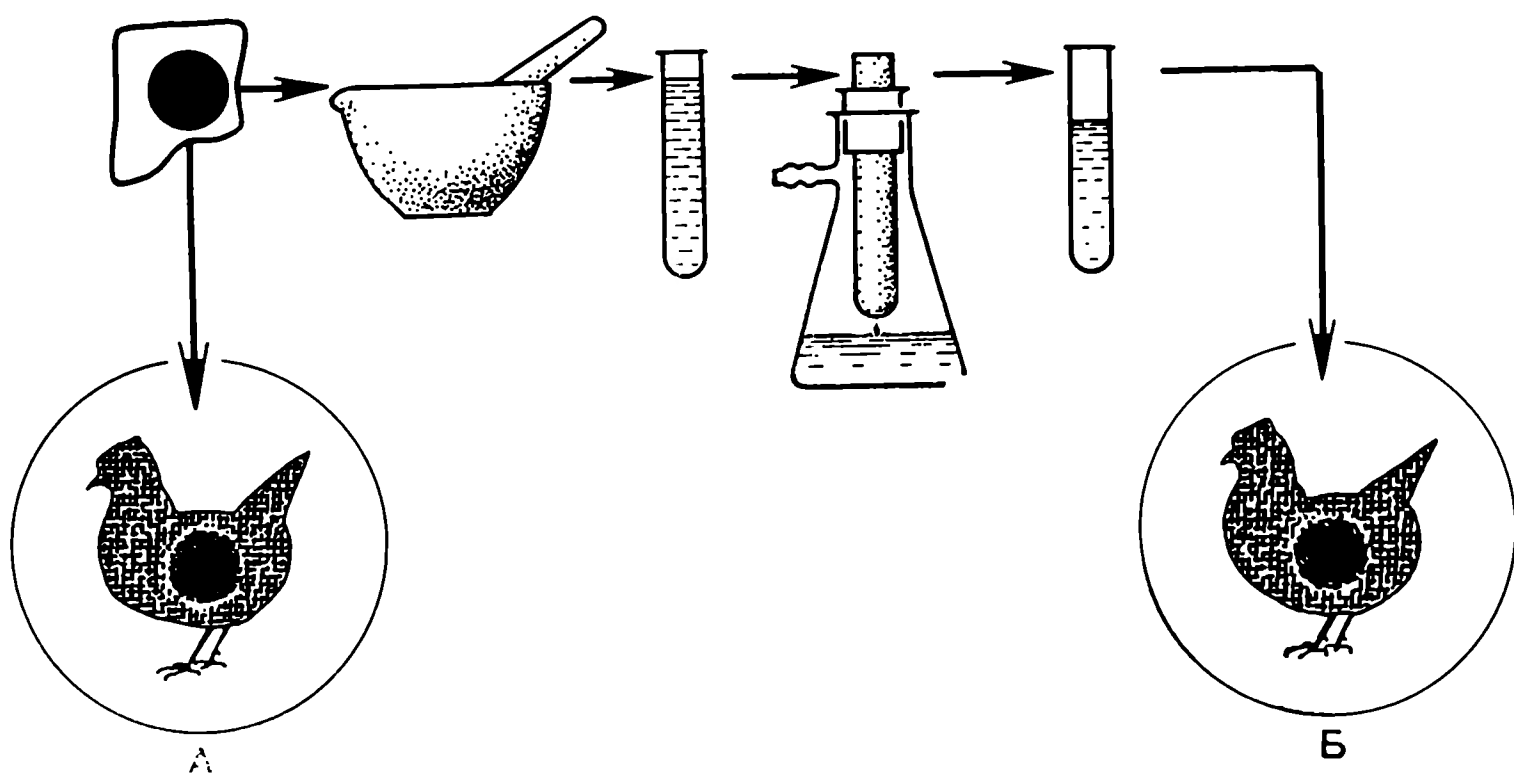
Раусу посчастливилось: у одной из привитых им кур развилась саркома, и он стал пересаживать опухоль от одной птицы к другой. Опухоль приобретала все большую и большую злокачественность. Для прививки требовалось все меньшее количество клеток. Раусу пришла в голову мысль ввести курам фильтрат опухоли, в котором клетки отсутствуют. Однако у птиц снова возникла саркома. Что же находилось в фильтрате? Не скрывается ли в опухолевой ткани вирус?

² Перевивка — специальный термин, обозначающий перенос опухоли с одного организма на другой. Иначе — пересадка, прививка.



Увлечение вирусами в начале XX в. было повальным. Эти не видимые под обычным микроскопом организмы искали везде, где не удавалось обнаружить бактерии. Материал от больных людей и животных пропускали под давлением через специальные фарфоровые свечи и асбестовые пластинки с мельчайшими порами, задерживающими бактерии и животные клетки, а затем проверяли способность бесклеточного препарата вызывать заболевание. Главной отличительной особенностью вирусов считали малые размеры, позволяющие им проходить через фильтр. В 1903 г. французский ученый Амеде Борель выдвинул гипотезу, связывающую рак с вирусной инфекцией. Но она не нашла поддержки: опухоли млекопитающих и человека не прививались фильтратом — для этого требовались клетки.

Однако Раус экспериментировал с птицами. Да и может ли исследователь не проверить собственное предположение? Раус повторил опыт со всеми предосторожностями, чтобы полностью исключить попадание клеток в фильтрат.



Перевивка опухоли клеточным и бесклеточным материалом

А — клеточная перевивка. Введенные опухолевые клетки, разрастаясь, образуют узел опухоли. Б — перевивка фильтратом, не содержащим клеток. Находящийся в нем вирус превращает нормальные клетки в опухолевые, из которых и образуется опухоль

Птицы заболели: на месте введения бесклеточного материала появились плотные саркоматозные узлы.

Это было открытие. Открытие, как считал ученый, необычайной важности. Раус объявил о наличии вируса, вызывающего саркому. Вирус и саркома! Удар по существующим воззрениям. Против Рауса тотчас выступили две группы ученых. Одни отрицали вирусную природу фильтруемого агента: не все, что фильтруется, обязательно вирус. Другие сомневались в раковой природе опухоли. Ведь при разных инфекциях — туберкулезе, сифилисе и многих других — тоже возникают узелковые разрастания, но они не имеют ничего общего с опухолями. При саркоме кур в результате переноса клеток из первичного очага иногда образуются *метастазы*³. Но саркома кур может и рассасываться. А это несвойственно злокачественным опухолям.

Чтобы опровергнуть доводы своих противников, Раус привел многочисленные данные в доказательство опухолевой злокачественной природы куриных сарком и показал, что фильтруемый агент обладает всеми свойствами вируса.

³ Метастаз — вторичный опухолевый узел, возникающий в результате переноса опухолевых клеток (от греческого слова «метастазис» — перенос, перемещение).

Уже через несколько дней после введения фильтрата на месте инъекции образовывался саркоматозный узелок, который, быстро разрастаясь, приводил птицу к гибели. Вызываемые им саркомы очень отличались по своему строению и виду, по скорости роста и способности прорастать в соседние ткани. Особенно поразило Рауса одно наблюдение: наименее злокачественные медленно растущие опухоли не всегда удавалось привить фильтратом. Может быть вируса в них не было? Или виноваты куры, среди которых есть малочувствительные к вирусу? Раус по-



ПЕЙТОН РАУС

ставил много опытов, пока установил, что, если привить клетки «нефильтруемой» (т. е. не прививаемой фильтратом) опухоли высокочувствительным курам, вирус вновь появляется: саркома начинает перевиваться бесклеточным материалом.

Следовательно, «нефильтруемую» опухоль можно превратить в «фильтруемую». К нефильтруемым относили в то время все злокачественные опухоли млекопитающих и человека.

Раус опубликовал свои новые данные. Но ученый мир все же не понял огромного значения его исследований. Сила инерции и скептицизм помешали дать им достойную оценку (лишь полвека спустя ученый получил Нобелевскую премию за свои работы по саркоме кур). Раус выявил еще несколько видов вирусных опухолей птиц. Однако, оказавшись не в силах изменить общее настроение умов, он переключился в конце концов на другие научные задачи.

Между тем его исследования нашли своих продолжателей, и проблема «вирусы и рак» не заглохла.

Накапливались сведения о том, что не только многие саркомы птиц, возникшие в естественных условиях, но и саркомы, вызванные химическими канцерогенными ве-

ществами, приобретают после ряда прививок фильтруемость⁴.

В 1932 г., через 20 лет после открытия Рауса, американский ученый Ричард Шоуп сообщил о выделении вируса из доброкачественной опухоли — *фибромы* кроликов, а несколько позднее, в 1934 г., — из бородавок, или *папиллом*, кролика. Бородавки доставили Шоупу немало трудностей. Сначала все шло хорошо: прививки фильтратом из опухолей дикого кролика лабораторным домашним кроликам регулярно вызывали рост папиллом. Это подтверждало присутствие в них вируса. Однако дальнейшие бесклеточные прививки от одного лабораторного кролика другому не удавались. Может быть вирус исчезал или переставал вызывать опухоли?

На введение вируса организм отвечает реакцией иммунитета. Шоуп доказал, что бородавки лабораторных кроликов вызывают такую реакцию, следовательно, вирус находится в опухоли, но маскируется, не проявляет себя.

У одного из подопытных кроликов ученый заметил, что на месте бородавки возникла раковая опухоль. Об этом интересном наблюдении он сообщил Раусу. Вскоре обнаружился еще ряд таких фактов. Создавалось впечатление, что между вызванной вирусом бородавкой и раком есть какая-то связь. В исследования включилась лаборатория Рауса. Но ни Шоупу, ни Раусу не удалось найти вируса в раковой ткани кроликов. В тех единичных случаях, когда вирус все же выделяли, он вызывал бородавки, а не рак. Был ли причиной рака у кроликов вирус и существует ли вообще вирус кожного рака кролика? Эти вопросы остались без ответа.

Однако примерно в то же время были открыты еще два опухолевых вируса: один у лягушек, другой у мышей. В 1934 г. американский патолог Болдуин Люке заметил,

⁴ М. М. Невядомский в своем докладе не упомянул, что еще до Рауса, в 1908 г., два датских ученых — Вильгельм Эллерман и Олаф Банг доказали роль вируса в развитии лейкоза у кур. (Это заболевание называют иногда «раком крови».) В те годы его причисляли к системным разрастаниям кроветворной ткани, а не к злокачественным опухолям. Выявление лейкозного вируса только подкрепляло этот взгляд. Поэтому исследователи не откликнулись на открытие Эллермана и Банга. Оно прошло почти незамеченным. Сейчас первым опухолеродным вирусом, вызывающим злокачественный рост, естественно, считают вирус лейкоза кур.

что леопардовые лягушки довольно часто поражаются раком почки. В ядрах раковых клеток он находил особым образом окрашивающиеся образования, подобные *тельцам-включениям* при вирусных болезнях. Он предположил, что рак почки лягушки вызывается вирусом и подкрепил это успешными прививками высушенным экстрактом из опухолевых клеток. Они неизменно приводили к развитию рака почки: в клетках опухолей появлялись характерные тельца-включения. (Спустя более 20 лет вирусная природа рака почки лягушки была подтверждена опытами с фильтрациями опухолевой ткани.)

Лягушки — это земноводные животные, далекие от млекопитающих. Но каково же было удивление ученых, когда в 1936 г. американский исследователь Джош Биттнер объявил о своих успешных опытах с опухолями молочных желез мышей.

В отдельных мышинных семьях раковые опухоли появляются особенно часто. Путем скрещивания братьев с сестрами из этих семей в ряде последовательных поколений ученые получили мышинные семьи, или линии, с очень высоким процентом рака. Их называли *«высокоракowymi»*. Аналогичным образом вывели семьи *«низкоракowych»* мышей: с ничтожным процентом случаев рака. Тщательный анализ показал, что у высокоракowych мышей заболевание передается по материнской линии: от матери — потомству. Но как? Через яйцеклетку, плаценту, молоко?

Биттнер поставил такой опыт: он отнял от здоровых высокоракowych самок только что рожденных мышат и посадил их к низкоракowym самкам. У подопытных мышей опухоли не развились. И в следующем поколении число опухолей молочных желез было низким. Далее выяснилось, что у потомства низкоракowych самок, вскормленного молоком здоровых высокоракowych самок, во многих случаях развиваются опухоли молочных желез.

Итак, «виновато» молоко. Видимо, с молоком высокоракowych самок передавался какой-то фактор, приводивший к развитию опухолей молочных желез. Биттнер назвал его *«фактором молока»*.

«Фактор молока» обладал всеми свойствами вируса. При введении новорожденным мышатам он вызывал рак молочных желез. Интересно, что опухоли появлялись через очень длительный период: 8—10 месяцев. Это почти половина мышинной жизни! У мышей разных пород скрытый

период от момента введения вируса до заболевания был не одинаков. Он сокращался, если самка часто рожала и активировались женские половые гормоны. От гормонального состояния мышей зависели не только сроки появления рака, но и процент случаев заболевания. Рак молочных желез мог появиться даже у самцов, если им вводили женский половой гормон. Между вирусом и гормоном имелись какие-то сложные взаимоотношения.

Все эти данные М. М. Невядомский сообщил в подтверждение своей теории. А каковы аргументы против?

Во-первых. Нет доказательств, что опухоли, которые американские ученые перевивали фильтратами, являлись действительно злокачественными.

Во-вторых. Рак не инфекционное заболевание. Тысячелетний опыт медицины доказывает, что он не заразен.

В-третьих. Обнаружение инфекционных агентов в опухоли еще не означает, что они — главная причина рака.

Это заседание определило мои интересы. Рак! Страшная и загадочная болезнь! Но справилось же человечество с черной оспой, уносившей тысячи и тысячи жизней. А если действительно рак вызывается вирусом, разве нельзя найти средство против него?

Этому стоило посвятить свой труд, свои искания, свою жизнь.

* * *

В 1941 г. разразилась Великая Отечественная война. Она поставила на карту судьбы десятков, сотен миллионов людей. Что стоили перед ней жертвы, уносимые раком. Изучение раковых заболеваний приостановилось.

Но как только война закончилась, люди вспомнили о тяжелых болезнях, с которыми они еще не научились бороться. Оживилась работа в научных лабораториях.

Приехав после войны в Москву, я решила показать кому-нибудь из компетентных ученых написанный мной трактат на тему «Рак — болезнь двойного удара, или о роли синергических взаимоотношений в развитии вирусного процесса». Его замысловатое название отпугивало каждого, к кому я обращалась. Мне сразу же указывали на несуразность сопоставления рака и инфекции. Ведь большинство исследователей считали тогда, что никакой связи между ними нет. Но насмешка, скрытая или явная,

пад идеей моего «творения» лишь подогревала желание доказать свою правоту. И трактат мой, как снежный ком, обрастал новыми аргументами, становясь все толще. По молодости лет я думала, что это хорошо. Но ученые, которых я просила посмотреть работу, стали приходить в ужас от одного ее вида, даже не прочитав заглавия.

К счастью, в санатории «Узкое», который был временным домом моей семьи, этажом ниже жил академик Николай Федорович Гамалея. «Любопытно», — сказал он, как бы взвешивая на руках папку с рукописью. А наутро за мной пришла его дочь Мария Николаевна.

Николай Федорович лежал в постели. Рядом — на столе, на стульях, на полу у кровати — груды книг. «Освободите-ка себе стул. Поговорим». Этот незабываемый разговор продолжался до обеда. «Вот что, молодой коллега, приходите ко мне каждый день и отчитывайтесь. Рак занимает меня давно. Вас увлекла идея синергии⁵, а у меня теперь возникла мысль, нет ли антагонизма между вирусными возбудителями рака и другими вирусами. Не может ли это быть подходом к лечению рака? — Он задумался на минуту. — Тут эксперимент нужен, как и в ваших делах. Нигде наше незнание и наше бессилие не ведут к таким печальным последствиям, как в борьбе со злокачественными опухолями... Ну, поговорим еще в другой раз. Главное, если полюбилась вам идея, думайте о ней непрестанно, старайтесь, чтобы ничто не ускользнуло из поля зрения».

С тех пор прошли годы. Узкие тропы превратились в столбовую дорогу современной науки об опухолеродных вирусах. Лишь у некоторых ее верстовых столбов остановимся мы в этой книге.

⁵ Синергия — сочетанное, совместное действие (от греческих слов «син» — вместе и «эргос» — действующий),

ВИРУС И ОПУХОЛЬ

В 1946 г. вышла в свет небольшая книжка «Вирусная теория происхождения злокачественных опухолей». Автор ее, талантливый ученый Лев Александрович Зильбер, дал блестящий анализ накопившихся к тому времени новых экспериментальных данных и пришел к следующим выводам.

Во-первых, с несомненностью доказано существование вирусов, вызывающих рак. Попадая в организм извне, они могут проявить свою активность быстро, как вирус Рауса, или медленно, после скрытого периода, как «фактор молока», или же вовсе не проявить ее в течение жизни животного. Химические канцерогенные вещества и другие воздействия, приводящие к разрастанию тканей, активируют опухолеродные вирусы.

Во-вторых, существуют опухоли, вызванные вирусами, но не содержащие вирусных частиц, или содержащие вирусы в маскированной форме. Поэтому возможно, что и те многочисленные злокачественные опухоли животных и человека, которые не перевиваются филътратами, вызваны вирусами. Отсутствие принципиальных различий между опухолями, вирусная природа которых выявлена с полной очевидностью, и теми, природа которых еще не ясна, позволяет думать об общности их происхождения.

В-третьих, опухолеродные вирусы не возникают в самом организме, а проникают в него извне,— в этом их сходство с инфекционными вирусами. Но вызываемый ими процесс резко отличается от обычных инфекционных заболеваний, сопровождающихся воспалением и разрушением тканей; в основе его лежат наследственные изменения свойств клеток, переход их в злокачественное состояние. Превратив нормальную клетку в злокачественную, вирус не влияет больше на развитие опухоли.

В организованной Зильбером лаборатории начались по-



иски **опухолеродных** вирусов. Главными стали два направления: выявление в опухолях, не перевиваемых фильтратом, вирусного белка, и попытки активации «спящего», скрытого вируса в организме здоровых животных. Каждый вирусный белок, который в ту пору считали основным субстратом вируса, обладает только ему присущими свойствами, выступая в организме как специфический *антиген*, т. е. вызывая образование специфических белков-*антител*.

Для выявления вирусных белков-антигенов существует целый арсенал методов. Их взяли на вооружение. В 1949 г. сотрудники лаборатории Зильбера получили первые положительные результаты: Н. В. Нарциссов выявил антигенные различия между опухолевой и нормальной тканью крысы, автору этих строк удалось обнаружить их между нормальной и пораженной лейкозом селезенкой человека. В исследования включились З. Л. Байдакова, А. М. Гардашьян, Д. М. Левина, а затем Р. М. Радзиховская, В. В. Городилова, В. А. Артамонова, И. Е. Шустрова и другие сотрудники. Данных накопилось много,



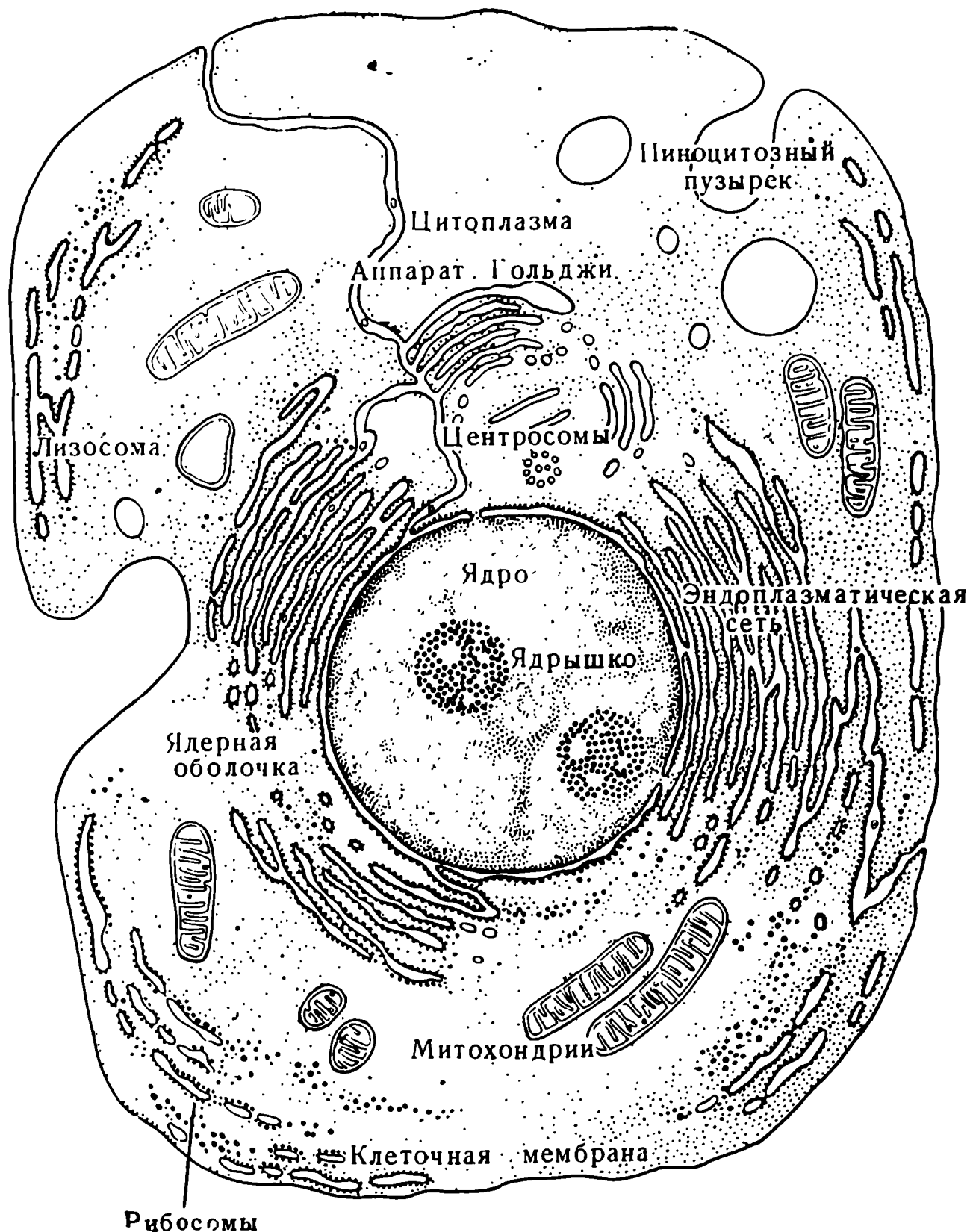
Сотрудники лаборатории Зильбера: Н. В. Нарциссов, З. Л. Байдакова, З. А. Авенирова, А. М. Гардашьян

и все они подтверждали наличие в опухолевых тканях особых антигенов, отличающихся от нормальных.

Но доказывают ли эти опыты причинную роль вируса? Не могут ли возникнуть подобные различия без вирусной инфекции? Это следовало проверить в эксперименте.

Известно, что при заболевании, называемом *амилоидозом*, внутренние органы резко изменяются: в ткани откладывается особое белковое вещество — *амилоид*, придающее ей специфический вид и цвет. Мои опыты с амилоидной селезенкой человека показали, что она отличается по своим антигенам от нормальной. Играл ли здесь какую-нибудь роль вирус? Искусственно вызвав амилоидоз у мышей путем многократных введений им щелочных препаратов, мы снова выявили в ткани селезенки особые антигены. Стало ясно, что изменение антигенных свойств ткани не всегда можно отнести за счет действия вируса. Все оказалось гораздо сложнее. Но именно опыты лаборатории Зильбера, установившие антигенные отличия нормальной и опухолевой тканей, проложили путь к развитию учения об иммунитете к опухолям.

Значительно менее успешно разворачивались исследования по активации вируса путем последовательных пере-



Клетки и ее главные компоненты

В ядре видны контуры хромосом. Черные, довольно крупные точки в цитоплазме (внизу) — свободные рибосомы (по Ж. Браше)

носов материала — пассажиров. Этот метод широко используется в вирусологии для перевода вируса из «спящего» в активное состояние. Была поставлена цель — найти вирус лейкоза у здоровых мышей. Выбранная модель казалась наиболее перспективной: недаром первым из онкодеродных вирусов был открыт вирус лейкоза кур! К тому же течение лейкоза у мышей и птиц во многом сходно и более чем какое-нибудь другое опухолевое заболевание напоминает вирусный процесс. Лейкоз удастся вызвать у мышей канцерогенными веществами, даже если

в естественных условиях эти мыши заболевают редко. Значит, вирус находится в их организме!

Опыты по активации ставились мной на протяжении почти трех лет с тканью костного мозга, селезенки, печени и других органов, наиболее поражаемых при лейкозе. Бесклеточные суспензии из тканей вводили мышам в грудное пространство, в брюшную полость, в селезенку и путем ингаляции. Каждый перенос материала, или пассаж, производился и с недельным и с месячным интервалом, поскольку вирус может проявлять свое действие медленно. Всего в опытах было использовано 2000 мышей, проделана колоссальная по трудоемкости работа. Но время шло — и ни одного лейкоза! В опыты вводились различные дополнения, исследования все расширялись. Опухолеродные вирусы очень своенравны, именно тогда, когда их ищут, они не торопятся показать себя. Биттнер свой первый опыт с «фактором молока» начал в январе 1934 г., а короткий предварительный отчет о нем появился в печати только 14 августа 1936 г. Второй опыт длился 18 месяцев. Экспериментатору нужны выдержка и терпение.

В 1951 г., в разгар этих исследований, появилась сенсационная работа американского ученого Людвика Гросса: обнаружен вирус лейкоза мышей. Гросс вводил экстракты тканей больных животных мышам, редко болеющим лейкозом, но высокочувствительным к прививке лейкозных клеток, особенно в раннем возрасте. Он начал опыты в 1945 г., используя первоначально мышей-сосунков. За два с лишним года наблюдения — до естественной гибели животных — никаких убедительных результатов Гросс не получил.

Разочарованный неудачей, ученый готов был отказаться от своей идеи. Но как раз в это время появилась публикация о том, что у мышей начиная с двухдневного возраста снижается или даже утрачивается чувствительность к вирусу коксаки⁶. Может быть и к вирусу лейкоза мыши теряют чувствительность вскоре после рождения? Это предположение заставило Гросса поставить новую серию опытов, но уже на однодневных мышах. Начатые в январе 1950 г., они принесли успех: в одной

⁶ Вирусы коксаки относятся к группе кишечных вирусов человека. Первые выделены в 1948 г.



группе 7 из 14 подопытных мышей заболели лейкозом через 8—11 месяцев, в другой группе 29 из 44 мышей заболели через 4—20 месяцев. И в 1951 г. Гросс сообщил о своих результатах.

Однако торжествовать победу было рано. В течение нескольких лет все попытки повторить его опыты терпели неудачу. Многие исследователи стали относиться к ним с недоверием, предполагая, что в материале все же содержались лейкозные клетки. Но Гросс упорно отстаивал свои выводы. В конце концов скептики были посрамлены — при точном соблюдении всех деталей эксперимента вирус лейкоза мышей выявлялся. Опыты Гросса открыли новый период в изучении опухолеродных вирусов.

Лейкоз мышей во многом похож на лейкоз птиц и человека. Естественно, что от исследований Гросса тут же перебросили мост к заболеванию человека. А не обусловлены ли неудачи перевивок прежних лет тем, что для опытов брали взрослых животных, в крайнем случае молодых, но не новорожденных?

Это предположение требовало экспериментальной проверки. Во многих лабораториях в разных странах стали прививать новорожденным животным экстракты и фильтраты из лейкозных и других опухолевых тканей человека. В нашей стране такие опыты провели А. И. Агеенко, В. М. Бергольц, В. А. Парнес, В. В. Сунцова, Г. И. Яковлева и др. Это были длительные и сложные исследования, но куда труднее оказалось их истолкование. В одних случаях в опытной группе возникало значительно больше лейкозов или опухолей, чем в контрольной. В других — результаты зависели от выбора линий мышей, в третьих — и они составляли большинство — число опухолей оставалось неизменным.

Положительные данные объяснили активацией скрытых опухолеродных вирусов при введении животным чужеродного тканевого экстракта.

Таким образом, в целом попытки выявить вирусы путем введения экстрактов из опухолей человека новорожденным животным не увенчались успехом. Конечно, это не опровергало вирусную теорию. Животные могли не обладать чувствительностью к опухолеродным вирусам человека.

Но прививки — не единственный путь выявления вирусов. При лейкозе птиц и мышей, при раке молочных желез мышей их удастся обнаружить с помощью электронного микроскопа. Подобные исследования предприняли с опухолями человека и обнаружили вирусоподобные ультрамикроскопические частицы при лейкозе и раке. Но выяснить их истинную природу и особенно причинную связь с опухолевыми заболеваниями оказалось весьма затруднительным, поскольку нормальные клеточные компоненты имеют те же размеры и форму, что и вирусы.

В 1953 г. В. А. Парнес и Н. Н. Соловьев, исследуя лейкозных больных, нашли при электронной микроскопии «хвостатые» частицы, похожие на бактериофаг. Их нельзя было спутать с внутриклеточными компонентами. Такие же частицы при лейкозе мышей в 1962—1964 гг. описали и другие исследователи А. Дальтон, Р. Зейгл и Ф. Раушер, М. Рич и Л. Джонс, Е. Харвен и Ш. Френд.

Однако тогда их признали всего лишь искусственными образованиями, связанными с техникой приготовления препаратов.

Позднее для электронной микроскопии стали готовить препараты, которые давали возможность выяснить структуру и расположение частиц в клетках. В 1959 г. американский ученый Леон Дмоховский описал при лейкозе человека структуры, весьма сходные с вирусами лейкоза мышей: с ядром в центре и двумя оболочками. Но другие исследователи обнаруживали частицы иного вида. Электронно-микроскопическое изучение не дало определенных результатов.



ЛЕОН ДМОХОВСКИЙ

Исследования иммунитета к опухолям, о которых упоминалось раньше, также были расширены. Сотрудники лаборатории Л. А. Зильбера В. В. Городилова, Д. М. Левина, В. А. Парнес, В. В. Шершульская обнаружили специфические антигены не только в тканях, но и в крови людей, больных лейкозом и раком. В составе открытого Д. М. Левиной и В. Артамоновой «специфического» антигена рака печени Гарри Израилевич Абелев вскоре нашел белок, который обычно встречается только у эмбриона. Во взрослом здоровом организме таких белков нет.

Следовательно, антигенные различия нормальной и опухолевой ткани нельзя было прямо отнести за счет вирусного антигена. Наличие вируса в опухолях человека доказать не удалось.

На этом этапе экспериментальной работы многие ученые стали поддерживать предположение, что вирус, вызвав опухоль, в дальнейшем не участвует в злокачественном процессе, а потому и не обязательно обнаруживается в ней. «Мавр сделал свое дело, мавр может уйти», — так образно говорил Л. А. Зильбер.

Но соответствует ли это действительности?

ЧТО МЫ ЗНАЕМ О ВИРУСАХ

Итак, вирусы рака человека не были найдены, но предположение о их роли в возникновении заболевания осталось в силе. Не выделив вирус рака человека, мы, естественно, ничего не можем о нем сказать. Но что вообще известно нам о вирусах?

Долгое время считалось, что основным субстратом вируса является белок. Белку придавали главное значение в передаче наследственности.

Наследственный аппарат животных и растений представлен хромосомами, которые состоят из сложных белков — нуклеопротеидов, включающих собственно белок и дезоксирибонуклеиновую кислоту, или сокращенно ДНК⁷. Кроме ДНК известен еще один класс нуклеиновых кислот — рибонуклеиновые кислоты, или РНК.

В начале 40-х годов было установлено, что в клетке наследственные свойства заложены (или, как говорят, «записаны») в ДНК, поэтому именно ДНК, а не белок играет ведущую роль в наследственности. Наследственный аппарат вирусов — это чистая нуклеиновая кислота, у одних — ДНК, у других РНК.

Что же представляют собой нуклеиновые кислоты?

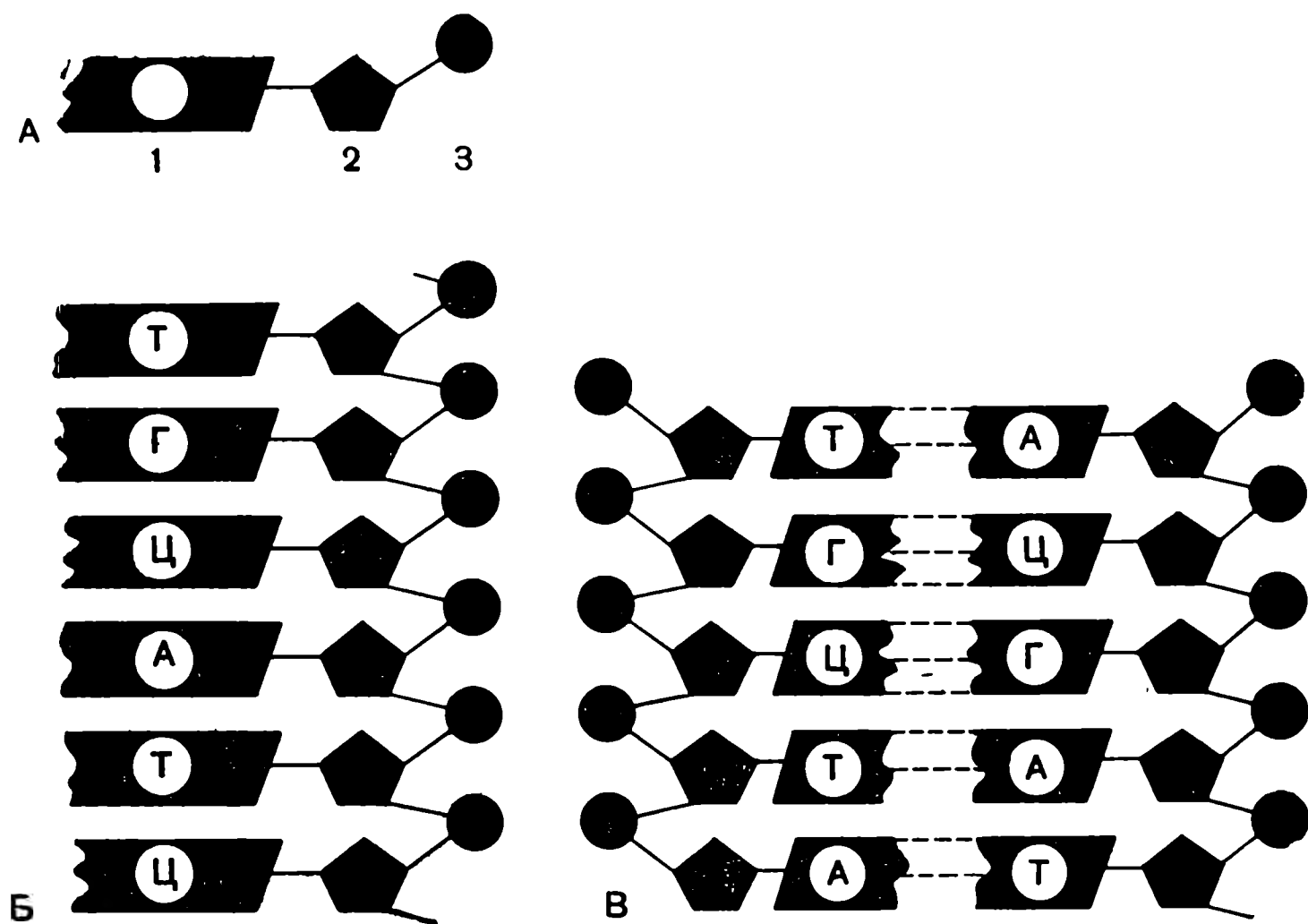
С химической стороны молекула нуклеиновой кислоты — полимер⁸, составленный из многочисленных блоков. Каждый блок — это *нуклеотид*. В нем три компонента: *азотистое основание*, сахар и фосфат. В ДНК нуклеотиды содержат сахар, *дезоксирибозу*⁹, а в РНК — *рибозу*. Отсюда и произошли названия этих нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновая и рибонуклеиновая.

В каждой молекуле нуклеиновой кислоты отдельные нуклеотиды различаются между собой только по характеру азотистого основания, два других компонента — фосфат и сахар — одинаковы. В составе нуклеиновой кислоты четыре типа азотистых оснований, в ДНК — аденин, гуанин, цитозин, тимин, в РНК — аденин, гуанин, цитозин и уридин. Обычно нуклеотиды называют по азотистым

⁷ Название «нуклеиновая» кислота произошло от латинского слова «нуклеус» — ядро, так как впервые ее обнаружили в ядрах клеток.

⁸ От греческих слов «поли» — много и «мерос» — часть.

⁹ Приставка «дез» по-французски — удаление, «дезокси» — удаление атома кислорода.

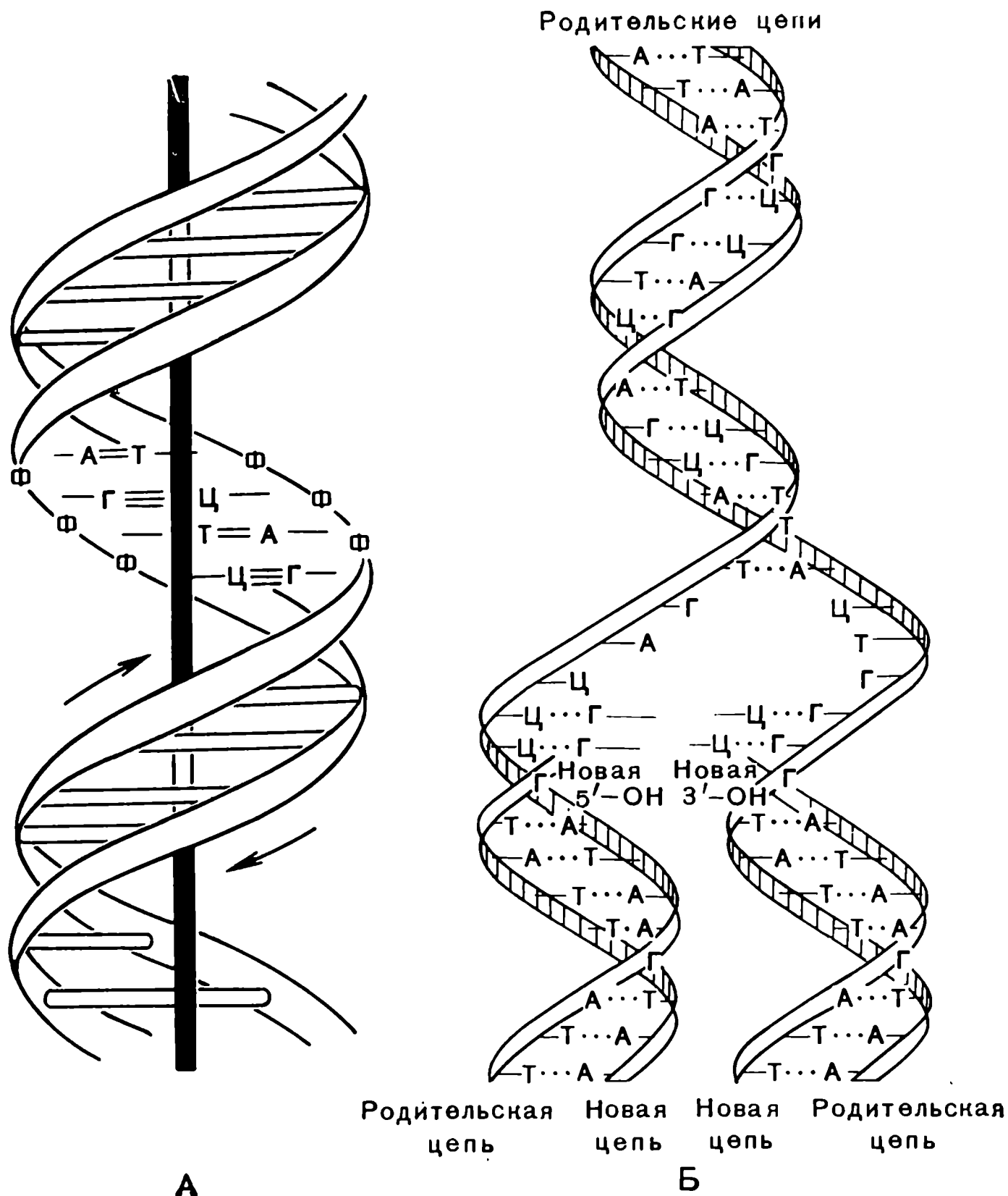


Строение ДНК

А — нуклеотид, Б — полинуклеотид, В — комплементарное расположение нуклеотидов в участке двойной спирали ДНК. 1 — азотистое основание, 2 — сахар дезоксирибоза, 3 — фосфат; в кружках: А — аденин, Г — гуанин, Т — тимин, Ц — цитозин

основаниям: адениловый, гуаниловый, цитидиловый, тимидиловый и уридиловый, или сокращенно: А, Г, Т, Ц, У. Нуклеотиды прочно связаны между собой в цепь, располагаясь по отношению друг к другу самым различным образом. Молекулярный вес одного нуклеотида в среднем 330. В молекуле ДНК их около нескольких десятков тысяч. В наследственном аппарате человека 3,5 млрд. нуклеотидов. Молекулярный вес ДНК достигает десятков и сотен миллионов — это гигантская молекула шириной до 20 Å (ангстрем), длиной до десятков и даже сотен микрон. Самая крупная молекула белка в сотни и тысячи раз меньше молекулы ДНК. Длина всех молекул ДНК в сумме составляет у кишечной палочки 2 мм, а в клетках человека — 18 м!

Всего четыре вида нуклеотидов и в каждом только по три компонента — так просто устроено вещество — носитель наследственной информации всех живых существ. На Земле описано примерно два миллиона видов. Откуда такое разнообразие столь просто устроенных молекул? Дело в



Двойная спираль ДНК и ее репликация

А — схема двойной спирали, Б — удвоение ДНК. На одном конце родительской ДНК (1) цепи расходятся и к ним подстраиваются вновь синтезируемые дочерние цепи (2). А — аденин, Г — гуанин, Т — тимин, Ц — цитозин, Ф — фосфат

том, что любая перестановка нуклеотида по всей длине молекулы нуклеиновой кислоты меняет ее специфичность, ее свойства. Количество возможных сочетаний нуклеотидов в цепи огромно. Этим объясняется существование великого множества разнообразных нуклеиновых кислот, передающих все наследственные свойства живых организмов. Стоит вспомнить, что в азбуке Морзе чередование

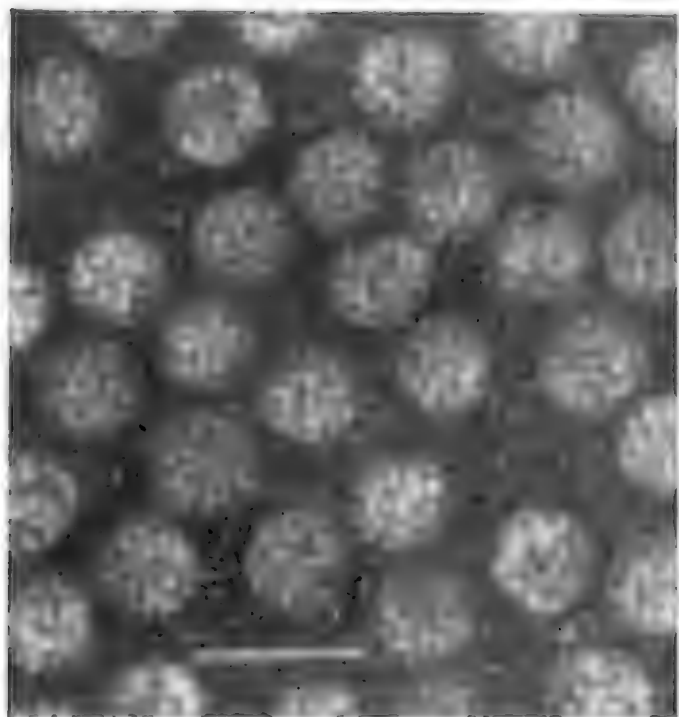
только двух знаков: точки и тире — передает любые слова любого языка.

Несмотря на простой состав, структура молекулы ДНК клетки сложна. Она состоит из двух нуклеотидных цепей, которые располагаются по отношению друг к другу так, что против А (аденилового нуклеотида) всегда стоит Т (тимидиловый), против Ц (цитидилового) — Г (гуаниловый), против Т — А, против Г — Ц. Такое расположение цепей ДНК называют дополнительным, или *комплементарным*¹⁰: концы молекул у аденина и тимина, так же, как у гуанина и цитозина, соответствуют друг другу по конфигурации, как зубцы у металлической «молнии» или край разбитого стекла, иначе говоря, дополняют друг друга. Обе цепи по всей длине молекулы «прошиты» водородными связями, образующимися между сближенными концами азотистых оснований. Причем между аденином и тиминем таких связей две, между гуанином и цитозином три. Многократно повторяясь, водородные связи прочно «держат» обе цепи. Молекула ДНК представляет собой как бы лестницу, боковые части которой построены из сахара и фосфорной кислоты, а ступеньки — из пар азотистых оснований, соединенных водородными связями. Лестница эта витая: она спирально перекручена вокруг центральной оси, причем в каждом ее витке, или марше, — четыре ступеньки, т. е. четыре пары азотистых оснований. «Лестница» ДНК легко раскручивается и быстро восстанавливает свою структуру.

Что же делает в клетке ДНК? Она руководит синтезом белков, определяющих все жизненные функции клетки, и обеспечивает себе преемника для дочерних клеток, чтобы в них происходил синтез белков той же структуры и того же состава. Таким образом, дочерним клеткам передаются свойства и признаки материнской клетки. Преемники образуются в результате удвоения ДНК — *репликации* молекулы¹¹. При делении в каждую из дочерних клеток попадает тождественная молекула ДНК. Однако сама по себе ДНК не самовоспроизводящаяся молекула,

¹⁰ Комплементарный, или дополнительный (от латинского слова «комплементум» — дополнение)

¹¹ Репликация, т. е. удвоение (по латыни «репликацио» — складывание в прежнем порядке: «ре» — приставка, обозначающая повторение и «плико» — складывать).



Вирусные частицы (электронная микроскопия)

Видны капсомеры, составляющие оболочку вируса бородавок человека. Отрезок прямой составляет 100 нанометров

Ц — Г, к Г — Ц. Образуются две «лестницы», в точности повторяющие исходную. Роль ДНК материнской клетки сводится к тому, что она «задает» порядок расположения нуклеотидов во вновь образуемых цепях. ДНК в составе хромосом переходит при делении клетки в дочерние, в каждой из которых оказывается равное количество наследственного вещества.

В вирусной частице нуклеиновая кислота составляет центральное ядро — *нуклеоид*¹⁴. Его, однако, не следует смешивать с ядром клетки. Нуклеоид окружен оболочкой — *капсидом*¹⁵. Вместе они составляют *нуклеокапсид*. Оболочка — капсид состоит из белковых структурных единиц — *капсомеров*¹⁶. Все капсомеры одинаковы и симметрично расположены вокруг вирусного ядра — нуклеоида. Некоторые вирусы имеют еще дополнительную внешнюю оболочку. Наследственную информацию, необходимую для образования и функционирования вируса, несет нуклеи-

т. е. для процесса репликации необходимы особые активирующие химические реакции белки, называемые *ферментами*¹². Главный из этих ферментов — *ДНК-полимераза*¹³. Под ее действием, начиная с одного конца молекулы ДНК, водородные связи между азотистыми основаниями нарушаются и ступеньки «расходятся». Из клеточного содержимого к ним тут же «подстраиваются» нуклеотиды, соединяющиеся в новую цепь. Эта «подстройка» происходит в соответствии с принципом дополнительности (комплементарности), т. е. к А подстраивается Т, к Т — А, к

¹² От латинского слова «ферментум» — закваска.

¹³ Большинство ферментов имеет окончание «аза». Полимераза — фермент, участвующий в образовании полимера.

¹⁴ От латинского слова «нуклеус» — ядро.

¹⁵ От латинского слова «капса» — ящик.

¹⁶ Капсомер — часть капсида (по-гречески «мерос» — часть).

новая кислота. Она и составляет последственный аппарат вируса, его геном. Он устроен проще наследственного аппарата клетки высшего организма, так как представлен только нуклеиновой кислотой — ДНК или РНК, — которая может быть двухцепочечной или одноцепочечной (наследственный аппарат клетки, как мы уже говорили, — это всегда комплекс двухцепочечной ДНК с белком).

Все вирусы — внутриклеточные паразиты. И размножение их осуществляется только внутри клетки. По способу размножения они резко отличаются от других живых форм растительного и животного происхождения. Новые поколения вирусных частиц возникают не путем деления, а совсем иначе: их компоненты — нуклеиновая кислота и белки оболочки — отдельно синтезируются в клетке, а затем собираются воедино, образуя частицы.

Все известные сейчас вирусы подразделены на 15 групп с учетом молекулярного веса и характера нуклеиновой кислоты (одно- или двухцепочечная), количества наследственной информации, числа капсомеров, типа симметрии, наличия или отсутствия внешней мембраны, места образования нуклеокапсида, размеров, места и способа формирования частиц и ряда других свойств.

При инфекции вирусная частица сначала адсорбируется на поверхности клетки, затем либо целиком попадает в ее внутреннюю среду, как бы заглатывается, либо снимает свою белковую «одежку» и входит в клетку «раздетой» — в виде «голой» нуклеиновой кислоты. Процесс освобождения вирусной частицы от белковой оболочки так и называют «раздеванием».

Не все клетки в равной мере чувствительны к инфекции вирусом. Он проникает лишь в те клетки, которые имеют на поверхностной мембране нужные ему *рецепторы*¹⁷, т. е. места, адсорбирующие частицы вируса. Но добраться до чувствительной клетки вирусу нелегко. На его пути многочисленные преграды — слизистые оболочки, возникающие в организме очаги воспаления, поступающие из крови противовирусные вещества и *фагоциты*¹⁸ — специальные клетки, захватывающие мертвый и чужеродный материал, попавший во внутреннюю среду организма, те самые фагоциты, о которых писал И. И. Мечни-

¹⁷ От латинского слова «реципио» — принимать, пускать.

¹⁸ От греческих слов: «фагос» — пожирающий и «цитос» — клетка.

ков. Повышение кислотности в пораженном участке и повышение температуры также создают для вируса неблагоприятные условия. Но даже вступив в чувствительную клетку, вирус продолжает борьбу за существование.

В процессе эволюции клетка приобрела способность защищать свой наследственный аппарат от воздействия наследственного вещества другого рода. Одно из средств защиты — выработка особого белка — *интерферона*¹⁹. Кроме того, в ответ на вирусную инфекцию в организме появляются антитела. Они бывают двух родов: свободно циркулирующие в крови и связанные с выработавшими их иммунными клетками. И те и другие антитела стоят на страже интересов организма: соединяясь с вирусными частицами, поступающими из клеток в межклеточное пространство, лимфу и кровь, они препятствуют инфицированию других клеток. Антитело вместе с вирусным белком — антигеном можно представить себе в виде защелкнутой кнопки на платье. А хорошие кнопки не так-то легко расстегиваются.

И все же вирусы нередко оказываются победителями. Как всякие «завоеватели», они устраиваются в клетках, не сообразуясь с интересами хозяев. Дальнейшие события могут протекать различно. В одних клетках вирус легко размножается, в других размножение затруднено, в третьих — вообще не происходит. По этому признаку клетки подразделяются на «*допускающие*» и «*недопускающие*» размножение данного вируса.

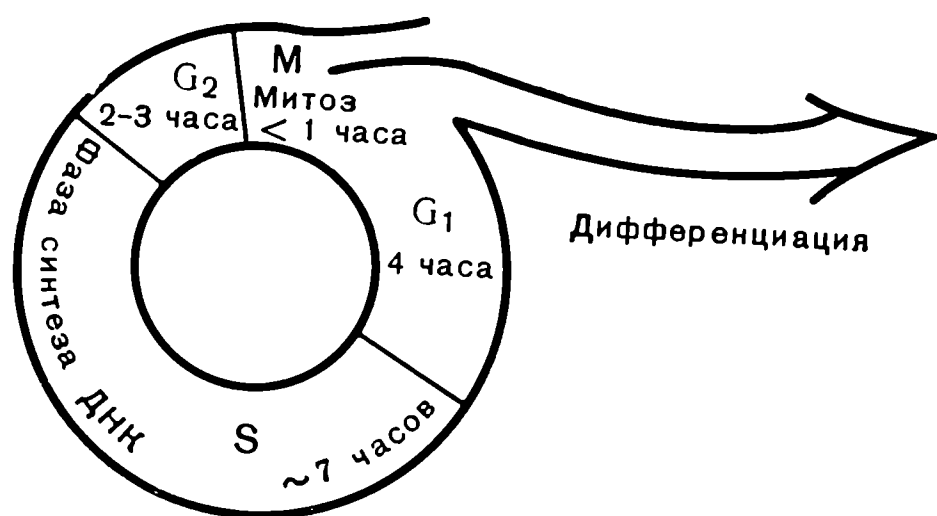
Чем это обусловлено? Окончательного объяснения еще не найдено. Есть указание на роль особого фактора, существенного для размножения вируса. Он находится в хромосомах клетки. Вирус дает потомство только в тех случаях, когда клетка содержит этот фактор.

Высказаны и другие предположения: первое: вирус не размножается в клетках, которые вырабатывают особый препятствующий этому *белок-репрессор*²⁰; второе: между инфицирующим вирусом и клеткой происходит конкуренция за использование ограниченных мест синтеза наследственного вещества, которая и определяет ход развития инфекции; третье: физиологическое состояние клеток, условия окружения и, наконец, фаза развития клеток в значительной мере влияют на размножение вируса.

¹⁹ От латинского слова «интерфор» — прерывать, препятствовать.

²⁰ По-латыни «репрессор» — укротитель.

Каждой делящейся клетке свойствен жизненный цикл, включающий четыре фазы: G_1 — первая фаза роста, подготовка к началу синтеза ДНК клетки; S — фаза синтеза ДНК; G_2 — вторая фаза роста, или промежуточная фаза, и D — фаза деления (или M — фаза *митоза*).



Клеточный цикл

G_1 — первая фаза роста, S — фаза синтеза ДНК, G_2 — вторая фаза роста, M — фаза деления (митоза)

В самые ранние стадии *эмбрионального*²¹ развития темп деления клеток очень быстрый. Все клетки однотипны, продолжительность фазы G_1 минимальна или эта фаза совсем отсутствует. Позднее клетки начинают специализироваться: каждый тип клеток приобретает присущие ему особенности, и фаза роста G_1 неуклонно увеличивается. К концу *дифференциации*²² она стабилизируется. Для каждого типа клеток в ткани устанавливается определенная продолжительность фазы G_1 . У таких высокодифференцированных клеток, как нервные и мышечные, фаза G_1 растягивается на весь срок жизни организма. Иначе говоря, эти клетки постоянно находятся в фазе G_1 и никогда не делятся. Принято считать, что регуляция клеточного деления осуществляется в фазе роста G_1 , так как переход в фазу S всегда сопровождается делением. Длительность фаз варьирует незначительно.

Когда клетки выращиваются в культуре — в особых стеклянных сосудах с питательной средой вне организма,

²¹ Эмбриональный, т. е. зародышевый (от греческого слова «эмбрион» — зародыш).

²² Дифференциация, или специализация, клеток (от латинского слова «дифферо» — различаться, разниться).

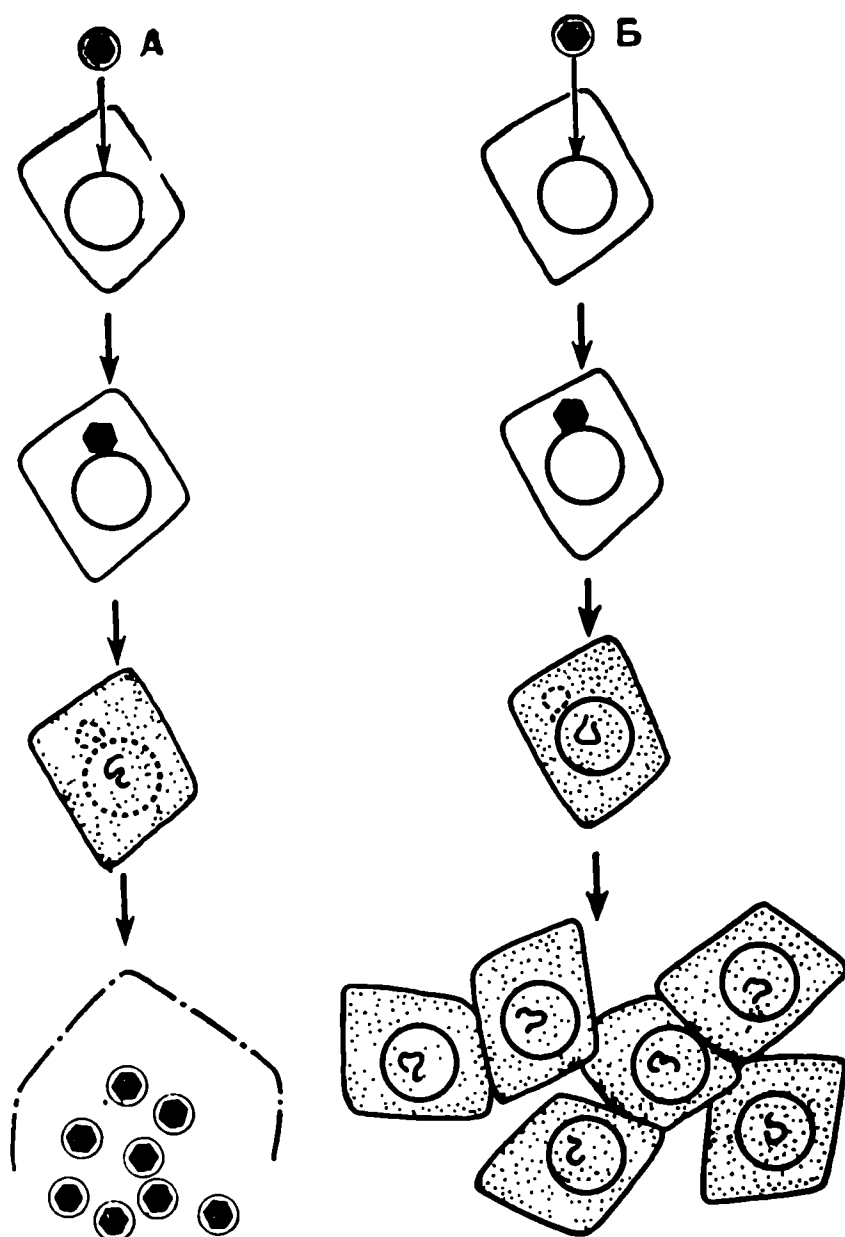
они проходят тот же жизненный цикл. После того как клетки высевают и начинается их размножение, фаза G_1 минимальна. Она варьирует в соответствии с темпом размножения. Как только клеток в культуре становится много и они приходят в контакт друг с другом, подвижность их утрачивается, и деление прекращается. Это называют «*контактной задержкой*», или торможением. Клетки как бы застывают в фазе G_1 .

Для вируса безразлично, в какую фазу он попадает в клетку. Представим себе клетку, включающую в себе два наследственных аппарата: один, высокоорганизованный, — клетки высшего организма, в котором ДНК тесно связана с белком в единую молекулу нуклеопротеида, и другой, вирусный, нуклеиновый. С точки зрения эволюции наследственный аппарат вируса представляется одним из наиболее простых, вне зависимости от того, какой точки зрения на происхождение вирусов мы придерживаемся.

До последнего времени, пока у вируса не обнаружили собственных ферментов — полное отсутствие у них обмена веществ заставляло предполагать, что вирусы возникли в результате *регрессивной эволюции*²³, т. е. от более высокой организации перешли к более низкой. По этой теории вирусы ведут свое происхождение от болезнетворных бактерий, дошедших до крайней степени паразитизма и утративших способность к размножению вне живой клетки. Согласно другой теории, вирусы происходят от нормальных клеточных компонентов, которые постепенно обособились и приобрели в известной мере независимый способ существования. И, наконец, вирусы рассматриваются как первичные элементы жизни, составляющие самостоятельную ветвь, из которой в процессе эволюции, возможно, возникли клеточные формы. Конечно, эти взгляды не исчерпывают все гипотезы о происхождении вирусов.

Наследственный аппарат вируса исключительно прост и представлен крайне ограниченным числом *генов*, — т. е. участков нуклеиновой кислоты, наделенных определенной функцией. В составе ДНК человеческой клетки — сотни тысяч генов, в нуклеиновых кислотах вирусов — единицы, десятки, максимум сотни. Такая простота наследст-

²³ «Регрессус» по-латыни — обратное движение.



Две формы вирусной инфекции

А — продуктивная инфекция, Б — трансформация. Белые кружки — ядра клеток, мелкие кружки с черным шестиугольником внутри — вирусные частицы. Шестиугольник — нуклеоид. При обеих формах инфекции вирус проникает в ядро клетки, но при продуктивной инфекции он размножается, и клетка гибнет; при трансформации вирус изменяет клетку таким образом, что она начинает безудержно размножаться (по Вернеру Хенлу)

венного аппарата вируса, несомненно, обеспечивает большую легкость и быстроту размножения.

Итак, в инфицированной вирусом клетке оказываются заключенными две наследственные системы: одна чрезвычайно сложная, другая — простая. В пагубном конфликте способность к сопротивлению более сложной системы может быть ниже, чем у простой, — в результате вирус занимает командное положение, и разворачивается инфекционный процесс. Он протекает в различных формах.

Когда вирусу удастся произвести новое потомство вирусных частиц в клетке, инфекцию называют продуктивной²⁴. Если накопление частиц происходит быстро, инфицированная ими клетка в какой-то момент разрушается и погибает. Если вирус размножается медленно, его частицы постепенно выходят из клетки, и в течение длительного времени клетка продолжает функционировать.

Другая форма инфекции — *абортивная*: вирус проходит в клетке только начальные стадии своего развития, затем

²⁴ От латинского слова «продуктивус» — пригодный для продолжения.

процесс как бы обрывается подобно тому, как обрывается при аборте беременность. Потомства вирусных частиц не образуется.

Третья форма сопровождается переходом нормальной клетки в злокачественную. Ее принято называть опухолевой *трансформацией*²⁵. Для краткости мы будем в дальнейшем писать просто трансформация, подразумевая опухолевое преобразование.

Как ведет себя в клетке хозяина наследственный аппарат вируса, его нуклеиновая кислота?

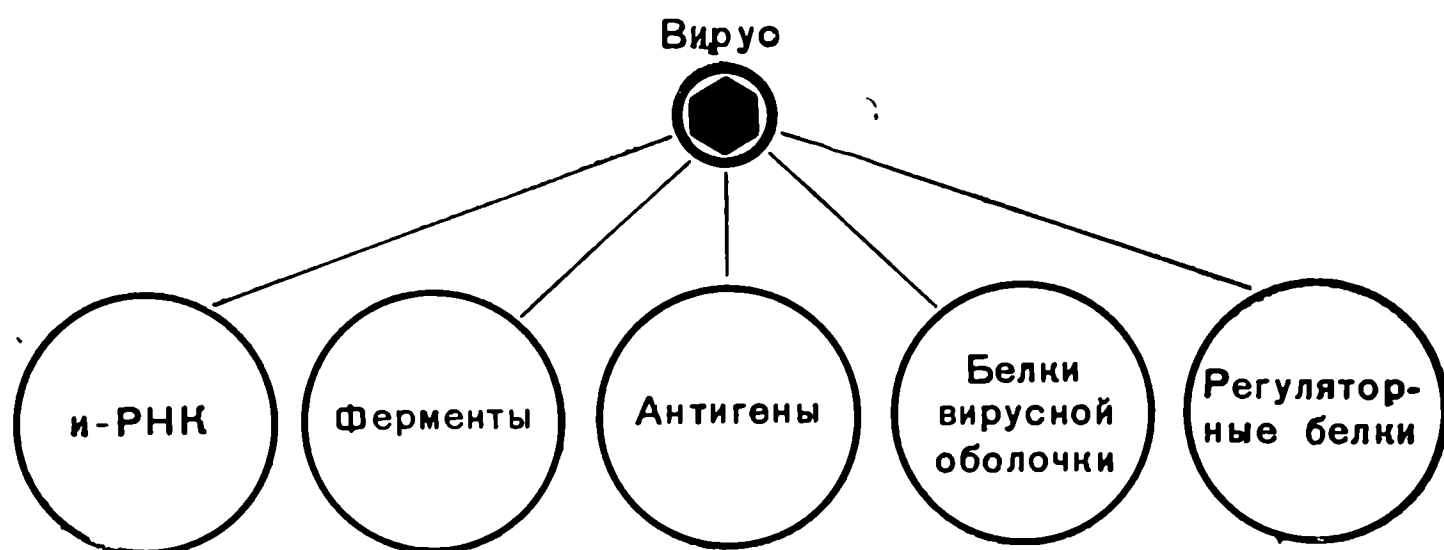
Сейчас мы переходим к довольно сложным вопросам. Все дело тут в терминах. Ученые склонны включать в свою терминологию необычно звучащие слова, нередко взятые из других областей. Так, для объяснения работы наследственного аппарата они использовали термины: «код», «транскрипция», «трансляция», все действующие вещества обозначили буквами. Но в общем получилось неплохо.

Мы уже писали, что работа наследственного аппарата клетки сводится к тому, что он «дает команду» к синтезу белков, обеспечивающих жизнедеятельность клетки, и воспроизводит себя. «Дать команду» на языке молекулярной биологии означает «передать информацию». Белки образуются в цитоплазме на особых структурах — *рибосомах*²⁶. При образовании новой молекулы ДНК информация, как мы говорили, прямо переходит к вновь формируемой ДНК. Но ДНК не может непосредственно передать информацию на рибосомы. Основной постулат молекулярной биологии, сформулированный Фрэнсисом Криком, гласит: информация с ДНК может быть передана только нуклеиновой кислоте, но она не передается непосредственно от ДНК белку. Посредником в передаче информации выступает РНК. Ее так и называли «*информационная РНК*», или «*иРНК*». Она синтезируется в ядре по подобию ДНК. При участии фермента *РНК-полимеразы* находящиеся в клетке свободные нуклеотиды собираются в цепь РНК, как бы «отштамповываясь» с участка ДНК. Процесс образования РНК по подобию ДНК называют «переписыванием» информации, или *транскрип-*

²⁵ От латинского слова «трансформо» — преобразовывать, превращать.

²⁶ Рибосомы — РНК-содержащие цитоплазматические структуры, участвующие в синтезе белка.

цией²⁷. Основной принцип транскрипции — дополнительность (*комплементарность*): аденину противостоит уридин (по строению близок тимину и эквивалентен ему по функции), гуанину — цитозин. В целом последовательность нуклеотидов в цепи информационной РНК дополнительна (комплементарна) участку ДНК, с которого происходит переписывание информации. Перейдя из ядра



«Следы» вируса

в цитоплазму, иРНК участвует в синтезе белка на рибосомах.

Белок — это полимер. Он так же, как и нуклеиновая кислота, состоит из многих блоков, только блоки нуклеиновой кислоты — нуклеотиды, а белка — аминокислоты. Молекула белка включает цепь аминокислот, или *полипептидную цепь*. От того, в какой последовательности располагаются в этой цепи аминокислоты, зависят характер и свойства белка, а от особенностей всех белков клетки — ее свойства.

Чем же определяется последовательность аминокислот в белковой молекуле? Для каждого белка она запрограммирована в определенном участке ДНК — гене и полностью зависит от потока наследственной информации, идущей от этого гена к рибосоме — мельчайшей биохимической машине, где происходит синтез белка. Сюда, в рибосомы, доставляются аминокислоты, всегда находящиеся в клетке. Они имеют собственный «транспорт» — особые молекулы РНК, называемые «транспортными», или

²⁷ От латинского слова «транскрибо» — переписывать, передавать.

«*тРНК*». Эти молекулы относительно малого размера. Они имеют вид перекрученной шпильки с «площадкой» для «посадки» аминокислоты на одном конце. На изгибе молекулы *тРНК* стоят три нуклеотида, или *триплет*²⁸. Каждый род аминокислот (а всего их двадцать) имеет свой «экипаж» с «родовым гербом» — триплетом. Информационная *РНК* командует порядком вхождения *тРНК* в рибосому, руководствуясь «переписанной» в ней программой синтеза белка и принципом дополнительности (комплементарности).

Так, если цепь *иРНК* состоит из нуклеотидов

У—Г—Г—А—Г—Ц—А—А—А—У—Г—У—Ц—Ц—Ц—А—Г—
—Ц—У—Г—Г—У—А—Ц,

то в рибосомы сначала поступит *тРНК* с триплетом АЦЦ и аминокислотой триптофаном, затем последовательно *тРНК* с триплетами УЦГ, УУУ, АЦА, ГГГ, УЦГ, АЦЦ, АУГ, которые несут соответственно аминокислоты — серин, лизин, цистеин, пролин, серин, триптофан, тирозин. Каждый триплет *иРНК* кодирует определенную аминокислоту.

Перевод с «языка» нуклеотидов на «язык» аминокислот носит название *трансляции*²⁹. В рибосоме каждая аминокислота соединяется с предыдущей. Транспортная *РНК*, освободившись от своего «пассажира», выходит из рибосомы за новой аминокислотой. Наращивание аминокислот в цепи продолжается до тех пор, пока *иРНК* не выполнит полностью всю программу.

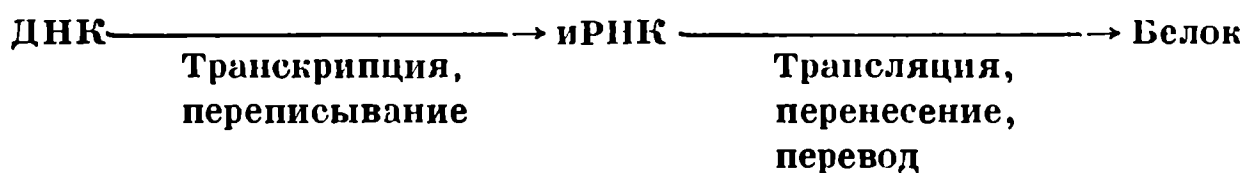
На всех стадиях процесс синтеза белка происходит с участием ферментов. Образующийся в клетке белок в точности соответствует заданной геном программе его строения. С гена «переписывается» не одна, а много копий *иРНК*. В клетке тысячи рибосом. Количество их соответствует интенсивности синтеза белка. Но синтезируются лишь те белки, которые запрограммированы в наследственном аппарате клетки, в ее ДНК.

Программа синтеза белков с ДНК передается по наследству от родительской клетки к дочерней. Весь ход передачи наследственной информации можно изобразить сле-

²⁸ От латинского слова «триплекс» — «строй из трех».

²⁹ От латинского слова «трансляцио» — перенесение, перевод.

дующим образом:



Все описанное относится к клетке. А что известно о вирусе, этом паразите, проявляющем свою жизнедеятельность, лишь находясь внутри клетки?

Преодолев все защитные барьеры и попав в клетку, вирус ведет себя в ней как захватчик. Он занимает ведущие позиции. Клетка оказывается вынужденной подчиниться «командам» его наследственного аппарата. Эти «команды» вирус передает через свои информационные РНК. Они образуются в результате транскрипции с вирусной нуклеиновой кислоты и несут отпечаток ее специфичности. На рибосомах вирусные иРНК передают программу синтеза белков, которые также получают вирусную «метку». В клетке накапливаются продукты с вирусной специфичностью.

Информация с наследственного вирусного вещества переписывается в две фазы — раннюю и позднюю. Первая обеспечивает синтез *«ранних» белков*, регулирующих дальнейшее переписывание информации с нуклеиновой кислоты вируса, а также некоторые другие процессы в клетке. Для образования новых молекул вирусной нуклеиновой кислоты используются находящиеся в клетке строительные блоки — нуклеотиды.

В их подготовке и соединении в одну цепь, комплементарную вирусной нуклеиновой кислоте, включается ряд ферментов. Так, полимеразы участвуют в построении нуклеотидной цепи, лигазы³⁰, по-видимому, замыкают связи внутри молекулы, нуклеазы расщепляют ДНК клетки, если не хватает строительного материала, до размеров недостающих блоков и т. д. В процесс удвоения (репликации) наследственного вещества вируса вовлекаются и ферменты клетки и ферменты вируса³¹.

Вслед за репликацией начинается вторая фаза — переписывание информации с участков, ведающих *«поздними» функциями*. К ним относится синтез белков вирусной оболочки.

³⁰ От латинского слова «лиго» — связываю.

³¹ Существование у вируса собственных ферментов сейчас точно доказано.

Как только в клетке накапливаются запасы вирусных нуклеиновых кислот и вирусных белков, начинается «сборка» вирусных частиц. Она происходит в ядре или цитоплазме. Вирусные частицы, имеющие дополнительную внешнюю оболочку, окончательно созревают на клеточных мембранах. Каждая группа вирусов имеет свое место, где формируются зрелые частицы. Новое поколение вирусных частиц выходит из клетки, зачастую разрушая ее. Одни вирусы в ранней фазе, другие в поздней подавляют синтез клеточных иРНК, белков и ДНК, третьи не проявляют никакого угнетающего действия и, наконец, четвертые стимулируют синтез клеточной ДНК.

Во всех случаях в клетке образуются вещества вирусной специфичности: нуклеиновые кислоты вирусов, вирусные «*ранние*» и «*поздние*» иРНК, «*ранние*» и «*поздние*» белки (белки вирусной частицы, антигены, ферменты, белки с регуляторными функциями). Обнаружение любого из этих продуктов в клетке говорит об инфекции ее вирусом.

Поэтому если не удастся выделить из клетки зрелые инфекционные частицы вируса, продукты с вирусной специфичностью служат показателем присутствия наследственного аппарата вируса — показателем инфекции. Исследователю это дает в руки средство для поисков маскированного, скрывающегося в клетке вируса.

Преступник всегда оставляет след, по которому его можно найти. Надо только искать — такова формула криминалиста. Так же думает и вирусолог, охотясь за виновником инфекции.

ТАЙНОЕ УБЕЖИЩЕ ВИРУСА

Долгое время ученые бились над вопросом, где скрывается опухолеродный вирус в клетке. Выяснить это удалось лишь после того, как были выделены два новых вируса — полиомы и ОВ40.

Экспериментируя с лейкозом мышей, Людвик Гросс сделал важное наблюдение: фильтраты из лейкозных тканей иногда вызывали у мышей не лейкоз, а опухоли околоушных желез. Тщательно изучив материал, Гросс обнаружил в фильтратах вирус с иными свойствами, чем лейкозный.



САРА СТЮАРТ



БЕРНИК ЭДДИ

Две американские исследовательницы, Сара Стюарт и Берник Эдди, с помощью другого метода также выделили вирус от больной лейкозом мыши, который при введении новорожденным мышам вызывал опухоли в различных тканях — в околоушных железах, почках, надпочечниках, костях, под кожей, в вилочковой и молочной железах. Поскольку для обозначения опухоли принято использовать суффикс «ома», новый вирус, вызывавший множественные опухоли, был назван *полиомой*.

Выяснилось, что этот вирус широко распространен среди диких мышей. Он устойчив во внешней среде, передается путем прямого контакта, а также с воздухом, пылью, пищей, как многие инфекционные агенты, однако в естественных условиях не вызывает опухолей. Чем это объяснить?

Оказывается, мыши восприимчивы к вирусу только в течение очень короткого времени после рождения. Затем их восприимчивость резко снижается. С молоком матери и через плаценту новорожденные мышата получают антитела к вирусу полиомы и нужна весьма значительная его доза, чтобы преодолеть иммунитет. Такая доза обеспечивается только в эксперименте.

Скрытый период развития полиомной опухоли продолжителен и тем длительнее, чем меньше доза инфекции, а дикие мыши погибают относительно рано. Поэтому полиомные опухоли не наблюдаются в естественных условиях.

Лабораторные мыши тоже часто бывают заражены вирусом полиомы. Для предотвращения инфекции нужны особые условия их содержания. Примечательно, что в развивающихся у мышей опухолях вирус не удается выделить ни одним из известных способов.

Все эти особенности полиомы, казалось, объясняют многое в патологии рака человека. Раньше противники вирусной теории указывали, что множественность типов опухолей человека предполагает существование столь же большого числа разных вирусов, а это попросту невероятно. Теперь возражение отпадало: подобно вирусу полиомы, гипотетический вирус человека мог быть виновником различных опухолей. Неудачи с выделением вируса из человеческих злокачественных опухолей также получали свое объяснение: он не всегда обнаруживается в заведомо вызванной им опухоли.

Ученые сделали еще одно важное наблюдение: мышиный вирус полиомы способен вызывать опухоли при введении новорожденным хомякам.

Хомяки (*Cricetus auratus*) — новый вид экспериментального животного. Они ведут свое происхождение из Сирии. Легкость разведения, почти полное отсутствие природных опухолей при высокой чувствительности к заражению вирусом, возможность перевивки даже чужеродных опухолевых клеток в защечный мешок, куда не попадают антитела и потому создаются благоприятные условия для приживания, — все это сделало хомяков излюбленной экспериментальной моделью.

В 1958 г., когда американские ученые опубликовали данные о чувствительности хомяков к вирусу полиомы, еще господствовало представление, что опухолеродные вирусы поражают только тот вид животного, от которого они происходят. Способность вируса куриной саркомы Рауса вызывать опухоли у млекопитающих, обнаруженная в 1957 г. Л. А. Зильбером и Г. Я. Свет-Молдавским, рассматривалась как особое свойство этого вируса. В свете опытов с вирусом полиомы стало ясно, что открытие советских исследователей имеет огромное прин-

ципиальное значение: строгая видовая специфичность — не обязательное свойство опухолеродного вируса. В дальнейшем выяснилось, что вирус полиомы вызывает опухоли не только у мышей и хомяков, но и у крыс, кроликов, морских свинок, африканских крысоподобных грызунов — мастомис и хорьков.

Еще более важные данные получены при исследовании вируса ОВ40. Первоначально его нашли в нормальной культуре клеток почек макаки резус. Клетки обезьян широко применяют для приготовления вакцин против полиомиелита и других вирусных инфекций.

Американские вирусологи Б. Свит и М. Хиллеман обнаружили в клетках обезьян много «дремлющих» вирусов, которые ничем себя не проявляют, не разрушают клетки, не меняют вида культуры. Но можно ли спокойно использовать вакцины, загрязненные этими вирусами? Безопасны ли они для человека? Их решили проверить на опухолеродность.

С этой целью в лаборатории Эдди жидкости из культур почек здоровых обезьян резусов, на которых готовились вакцины, ввели 23 новорожденным хомякам. Выбор животного определялся тем, что именно хомяки оказались наиболее восприимчивыми к опухолеродному действию вируса полиомы. Спустя несколько (от 4 до 15) месяцев у 20 подопытных животных развились опухоли. Результат был более чем неожиданным. Ведь такими вакцинами привиты миллионы людей. Опыт повторили. И снова у 109 из 174 хомяков возникли саркомы.

Итак, нормальные культуры почек здоровых обезьян вызывали опухоли. Естественно, встал вопрос: не опасны ли вакцины, готовящиеся на этих культурах, для человека? Так возникла проблема безопасности вирусных вакцин.

Однако сначала выделить вирус из опухолей хомяков, получивших культуру обезьяньих клеток, не удавалось. Стоило профильтровать растертый опухолевый материал и он переставал вызывать опухоли. Может быть опухолевое действие оказывал вовсе не вирус?

В 1961 г. Эдди приписала опухолеродную активность культур веществу невыясненной природы из клеток почек обезьян. Решить вопрос о природе этого действующего начала помогли опыты Свита и Хиллемана. Они показали, что в клетках почек макаки резус находится «дрем-

лющий» вирус, который выходит из «оцепенения» как только его вводят в клетки зеленой мартышки. Вскоре в них появляются многочисленные пузырьки — вакуоли, и клетки погибают. По характеру действия вирус получил название вакуолизирующего агента. Позднее Свит и Хиллеман дали ему место в своей классификации обезьяньих вирусов, где каждый обозначался буквами ОВ (обезьяний вирус) и номером. Вакуолизирующий агент назвали вирусом ОВ40.

Эдди и ее коллеги решили выяснить, нет ли вируса ОВ40 в опухоли хомяка. Они ввели материал из нее в культуру клеток зеленой мартышки и обнаружили вакуолизацию, типичную для этого вируса. Теперь оставалось выяснить, вызывает ли он опухоли. Исследования подтвердили и это. Вирус ОВ40 оказался тождественным опухолеродному агенту из клеток почки макаки резус. В проведенных независимо от Эдди опытах А. Жирарди и другие ученые также выявили его высокую опухолеродность для хомяков. Так был найден новый вирус, вызывающий у животного опухоль.

Почти в это же время в нашей стране Галина Исааковна Дейчман обнаружила, что нормальные культуры обезьяньих почек вызывают опухоли у крыс. Сначала их возникновение показалось удивительным, но после опытов Эдди опухолеродность культур, естественно, отнесли за счет вируса ОВ40.

Позднее ученые установили, что ОВ40 поражает не только хомяков и крыс, но и африканских грызунов мастомис, мышей и обезьян мармосет.

Однако у своих естественных хозяев — обезьян — вирус не вызывал опухоли, хотя сохранялся, размножался в их организме и выделялся во внешнюю среду.

Свит и Хиллеман выявили, что он широко распространен у обезьян резусов. Вирус обнаружили во всех образцах вакцин против полиомиелита, готовившихся на культуре почек обезьян. Он был весьма устойчив к теплу и формалину и поэтому сохранял активность не только в живых, но и в убитых вакцинах. А так как эти вакцины вводились людям, их прививали маленьким детям и даже новорожденным, это всех ошеломило.

Какова судьба вакцинированных? Срочно принялись выяснять, размножается ли вирус ОВ40 в организме человека и вызывает ли опухоли.

У лиц, получивших такие вакцины, обнаружили в крови антитела к вирусу. Это указывало на наличие инфекции. У некоторых детей, принимавших полиомиелитную вакцину в таблетках, вирус ОВ40 находили в стуле. Экспериментальное введение вакцины добровольцам не привело к заболеванию, но на 7—11 день в смывах из глотки нашли вирус ОВ40, а в крови — антитела к нему. Следовательно, он вызывает у человека бессимптомную инфекцию, может размножаться в организме, приводить к образованию специфических антител и даже выделяться во внешнюю среду.

За вакцинированными установили длительное наблюдение. Оно продолжается до сих пор. Опухолеродного действия ОВ40 на человека не обнаружено. Все же потенциальная опасность вируса ОВ40 заставила в корне изменить всю технологию производства вакцин, чтобы полностью исключить какое бы то ни было действие вируса ОВ40 на вакцинированных.

В Москве в Институте полиомиелита АМН СССР почти у трети персонала, работавшего с макаками резусами или культурами клеток обезьян, обнаружили антитела к вирусу ОВ40, хотя многие никогда не вакцинировались ни живой, ни убитой полиомиелитной вакциной. По-видимому, это был результат заражения при уходе за животными или во время опытов. Образование антител опять-таки не сопровождалось каким-либо заболеванием.

С вирусом ОВ40 провели интенсивные исследования на культурах ткани. Он трансформировал клетки хомяка, мыши, кролика, свиньи, а также и человека. При введении таких клеток животным во многих случаях развивались опухоли. Это свидетельствовало о злокачественном характере трансформации.

В Америке Х. Копровский с сотрудниками поставили опыт с трансформированными ОВ40 человеческими клетками на безнадежных раковых больных. На месте введения культур появились саркоматозные узелки, впрочем, вскоре рассосавшиеся. Разумеется, по сопротивляемости раковые больные резко отличаются от здоровых, и потому значение этого факта ограничено.

Вирус полиомы и ОВ40 сходны по многим свойствам с вирусом папилломы кроликов. Все они содержат в своем составе ДНК, чем принципиально отличаются от опухолеродных РНК-содержащих вирусов.

ДНК вирусов имеет кольцевую структуру. Размеры частиц всех трех ДНК-содержащих вирусов одинаковы — 45 нанометров ³² в диаметре. Их белковая оболочка состоит из 42 капсомеров; размножаются они в ядре, устойчивы к теплу и, наконец, все они опухолеродны.

Американский ученый Джозеф Мельник предложил объединить их в одну группу, которую он назвал «папова» (от первых слогов слов — папиллома, полиома и вакуолизирующий агент) ³³.

Молекулярный вес нуклеиновой кислоты вирусов группы папова мал — всего от 2 до 4 миллионов. Соответственно они обладают ограниченным количеством наследственной информации. ДНК этих вирусов способна направить синтез не более 10 белков средних размеров, т. е. в ее состав входит примерно 10 генов. Как же ведут себя носители столь ничтожного количества наследственной информации в клетке?

Чтобы ответить на этот вопрос, были тщательно изучены два основных вида взаимоотношений, в которые эти вирусы вступают с клеткой: один — ведущий к ее гибели, другой — к трансформации. Попробуем воспроизвести картину обычной продуктивной инфекции, сопровождающейся формированием вирусных частиц и разрушением клетки, на примере вируса ОВ40.

Вирусные частицы адсорбируются на рецепторных участках клеточной оболочки, проникают внутрь клетки и продвигаются в направлении ядра. Здесь клеточные ферменты растворяют белковую оболочку вируса. «Раздетый» вирус не сразу удастся обнаружить в ядре. Наступает фаза, когда он скрыт от исследователя. Однако вирусная нуклеиновая кислота уже начинает свою работу.

Почему клеточные ферменты — нуклеазы, разрушающие «чужеродные» нуклеиновые кислоты, не действуют на ДНК вируса? Окончательного ответа на этот вопрос нет. Возможно, кольцевая структура придает ДНК вируса особую устойчивость. Не исключено также, что клеточные нуклеазы вообще не воспринимают ее как чуже-

³² Нанометр равен 1×10^{-9} м (от греческого слова «нанос» — карлик).

³³ В группу «папова» были в дальнейшем включены и другие вирусы. Она насчитывает сейчас 7 представителей: вирус полиомы, вакуолизирующий вирус обезьян и кроликов, К-вирус мышей, вирус бородавок человека, папилломы кролика и быка.

родную. Конечно, для этого должны быть особые основания, например близость в структуре с ДНК клетки. Действительно, в клеточной ДНК обнаружены участки, в которых последовательность чередования нуклеотидов такая же, как в ДНК вируса ОВ40. Эти участки называют гомологичными. Известная степень сходства, или гомологии, по-видимому, имеется и между ДНК вируса полиомы и ДНК нормальной клетки мыши.

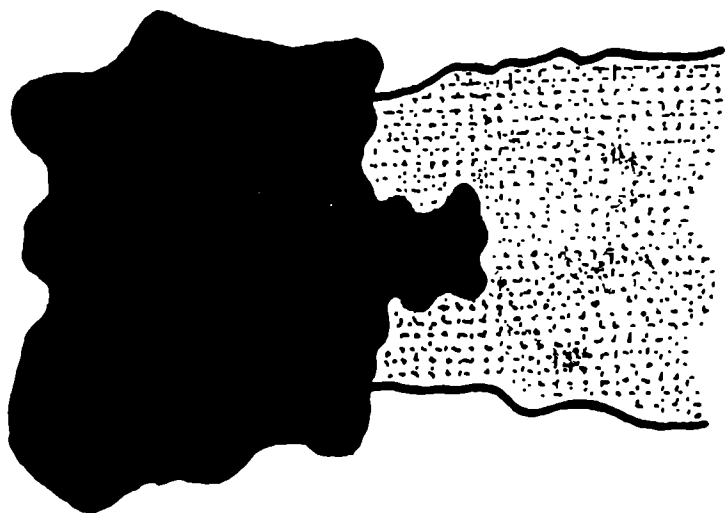
Как возникла, чем обусловлена эта гомология? Не исключено, по нашему мнению, что она сложилась в процессе эволюции. В ранних стадиях индивидуального развития высшие организмы повторяют в какой-то мере структуру низших. На этом основан биогенетический закон: онтогенез (индивидуальное развитие) повторяет в самых общих чертах филогенез (исторический путь развития). Конечно, повторение признаков предполагает, что в наследственном аппарате высших организмов сохраняется соответствующая информация в виде гомологичных участков ДНК. Наименее изучена пока эволюция самого наследственного вещества. Однако можно думать, что высшие организмы содержат какую-то, пусть очень малую, часть ДНК низших форм. Это могло бы объяснить наличие гомологичных участков ДНК высшего организма и вируса, принципиально отличающихся по уровню строения наследственного аппарата. Есть и другие предположения на этот счет, но определенного ответа мы еще не имеем. Так или иначе клеточные нуклеазы остаются «равнодушными» к ДНК вируса.

Кольцо вирусной ДНК размыкается в ядре, она приобретает обычную форму вытянутой двойной спирали и с этого момента берет на себя руководство событиями. Первый «приказ» вирус отдает ранней информационной РНК. По своему происхождению она чисто вирусная, т. е. переписана с ДНК вируса, а не клетки. Это четко доказывается особым биохимическим методом, получившим название метода *гибридизации нуклеиновых кислот*.

Он основан на том, что родственные нуклеиновые кислоты, имеющие гомологические участки, дают гибриды, а чужеродные не дают их. Чтобы распознать степень родства, достаточно ввести радиоактивную метку в исследуемую информационную РНК, а затем определить степень ее гибридизации с ДНК вируса и ДНК клетки.

В результате опытов выяснилось, что ранняя информационная РНК образует гибриды только с вирусной ДНК, т. е. имеет нуклеотидный состав, комплементарный вирусной ДНК.

Ранняя РНК, хотя она и «переписана» с вирусной ДНК, содержит не всю вирусную информацию, а лишь около одной ее трети. Выходя из ядра в цитоплазму, она участвует на рибосомах в синтезе особого антигена, названного *Т-антигеном*³⁴, отличающегося как от белков вирусной оболочки, так и от нормальных белков клетки.



Антиген и антитело

(по Дж. Уотсону)

Природа Т-антигена не выяснена. Название свое он получил от латинского слова «тумор» — опухоль, так как первоначально был обнаружен в опухоли, вызванной вирусом. Однако в дальнейшем установили, что он образуется и при обычной инфекции, когда происходит не трансформация, а формирование вирусных частиц.

В клетке Т-антиген накапливается в больших количествах, одновременно с ним в клетке под влиянием вируса повышается активность ферментов, необходимых для синтеза ДНК. Вирусы используют их в своих целях. Стимулирует ли вирус их образование непосредственно или устраняет вещества-репрессоры, ограничивающие выработку ферментов в покоящейся клетке, еще не установлено. Не исключено, что Т-антиген, переходящий из цитоплазмы в ядро, играет роль белка, снимающего запрет с передачи информации, но это предположение требует доказательств.

Клеточные ферменты синтезируют вирусную ДНК и лишь в незначительном количестве — ДНК клетки. По-видимому, они не способны различить ДНК вируса и клетки и легко подчиняются команде вируса. Синтез ДНК вируса ОВ40 происходит в ядре. Наряду с вирусной ДНК, полностью копирующей родительскую, в клетке появляются и дефектные формы. С вновь синтезированной

³⁴ Т-антиген — белок низкого молекулярного веса (около 70 000).

ных дочерних цепей вирусной ДНК (частично и с родительской) информация переписывается на позднюю РНК³⁵. Одна из ее функций — передача информации для синтеза вирусных белков, который осуществляется с помощью клеточных ферментов.

В цитоплазме накапливаются белки вирусной оболочки, которые позднее поступают в ядро. При этом белки, необходимые для жизнедеятельности клетки, синтезируются в недостаточном количестве, и обмен веществ клетки нарушается.

Вирусные белки соединяются в ядре с ДНК вируса ОВ40, образуя частицы, которые затем наводняют всю клетку. Появляются многочисленные пузырьки — вакуоли. В конце концов клетка разрушается. Частицы вируса выходят наружу. Часть вирусных белков соединяется в клетке с дефектной ДНК вируса, образуя дефектные частицы, способные инфицировать новые клетки. Но они не могут давать потомства. Пожалуй, пословица «В семье не без урода» подходит и к вирусам.

Дефектные частицы не отличаются по своему строению и антигенным свойствам от нормальных, однако они легче по весу, так как содержат меньше ДНК. Это позволяет подсчитать их долю среди освобождающихся из клетки частиц. В одной клетке может образоваться до 100 тысяч частиц, из них 99 тысяч легких и примерно тысяча тяжелых. От последних зависит дальнейшее развитие продуктивной инфекции.

В результате гибели клетки в окружающую среду поступают и неиспользованные при формировании частиц молекулы вирусной ДНК и вирусных белков, поскольку по количеству «вирусные заготовки» обычно значительно превышают материал, расходуемый на построение частиц. Их судьба, несомненно, представляет интерес, особенно если учесть, что ДНК, выделенная из вируса полиомы и ОВ40, способна вызывать как инфекционный процесс, так и превращение клеток в опухолевые. Но ДНК, не защищенная белковой оболочкой, подвержена разным воздействиям. Иначе ведет себя дефектная ДНК, проникающая в клетку в составе дефектных частиц. Она ограждена

³⁵ Информация, закодированная в ранней и поздней РНК, перекрывается. Подсчитано, что первая несет 37%, вторая — 76% всей информации ДНК вируса.

от многих неприятностей, подстерегающих «голую» молекулу нуклеиновой кислоты. Что происходит в клетке с дефектной ДНК? Позднее мы вернемся к этому вопросу.

Рассмотрим форму взаимоотношений вируса ОВ40 с клеткой, ведущую к опухолевому преобразованию.

Первые стадии — от адсорбции на клеточных рецепторах до синтеза Т-антигена — полностью повторяют те, которые наблюдаются при продуктивной инфекции, но процесс образования вирусных частиц в клетке подавляется. В трансформированной вирусом ОВ40 клетке не удается обнаружить ни инфекционных вирусных частиц, ни свойственной ему сверхскрученной кольцевой молекулы ДНК, ни белков вирусной оболочки.

Отрицательные результаты перевивок фильтратами опухолевой ткани, электронной микроскопии и биохимических исследований, казалось бы, подтверждают, что, изменив клетку, вирус сам «изменяет» ей и исчезает. Всё же попытки отыскать вирус продолжались, пока не был найден новый метод для обнаружения его наследственного аппарата в клетке. Этот метод основан на слиянии трансформированной клетки с клеткой, чувствительной к разрушительному действию вируса, т. е. «допускающей» его размножение, обеспечивающей условия для образования вирусных частиц.

Обычно в опытах слияния используют убитый вирус Сендай³⁶. Под его воздействием клетки слипаются.

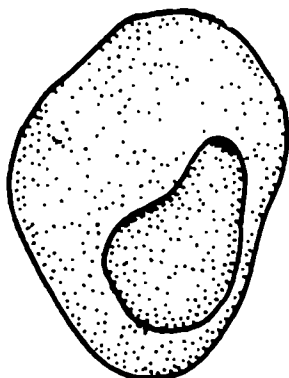
Течение продуктивной инфекции вирусом ОВ40

1—2 — вирусная частица адсорбируется на клеточной оболочке, затем внедряется в нее и проходит внутрь клетки; 3 — «раздевание» частицы; 4 — размыкание одной цепи кольцевой молекулы ДНК вируса и начало транскрипции с ранних генов вируса; 5 — синтез Т-антигена; 6 — переход Т-антигена в ядро и активация ферментов, участвующих в синтезе ДНК; 7 — синтез ДНК клетки и вируса; 8 — переписывание информации с поздних вирусных генов; 9 — образование на рибосомах белков вирусной оболочки; 10 — переход вирусных белков в ядро; 10—13 — формирование частиц, вакуолизация и разрушение клетки.

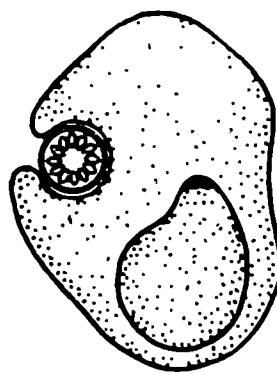
Черные квадратики — Т-антиген, черные мелкие кружки — вирусные белки, прозрачные мелкие кружки — ферменты синтеза ДНК, большие кружки с разомкнутой спиралью — ДНК-дефектные частицы и с замкнутой — нормальные зрелые частицы вируса (по Ф. Рэппу)

³⁶ Действие вируса Сендай обусловлено токсическим влиянием его липопротеидной мембраны. Поэтому, даже полностью потеряв активность

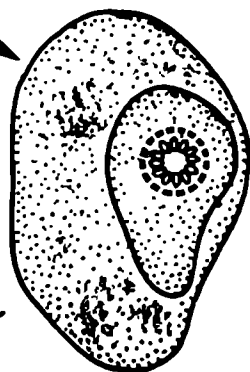
Вирус



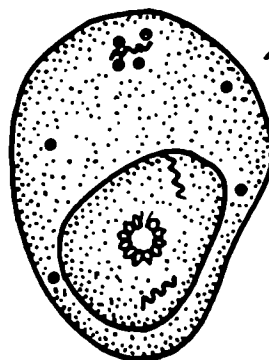
1



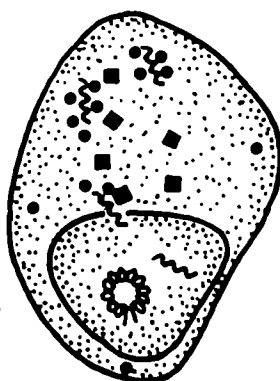
2



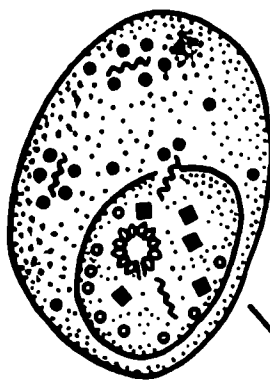
3



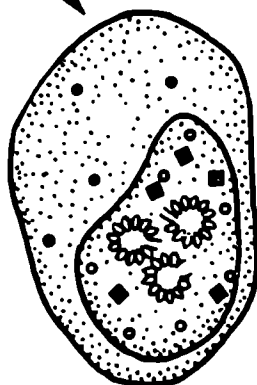
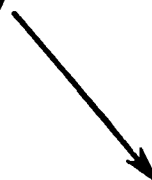
4



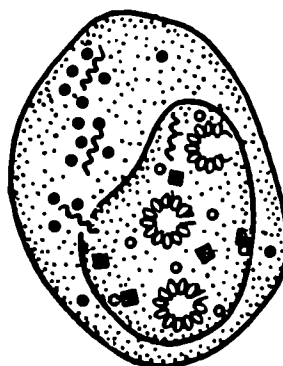
5



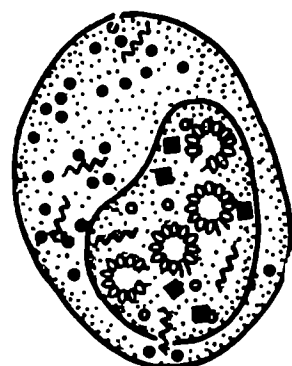
6



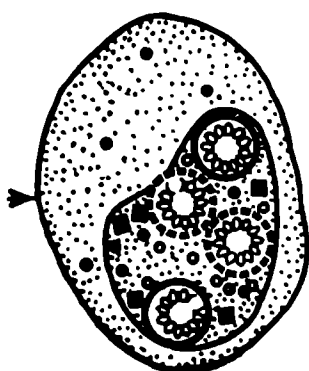
7



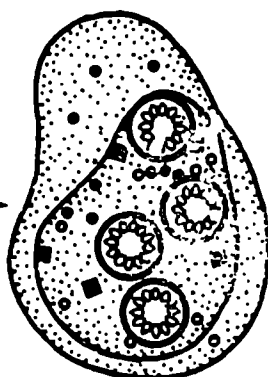
8



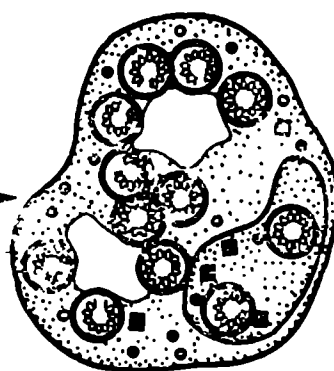
9



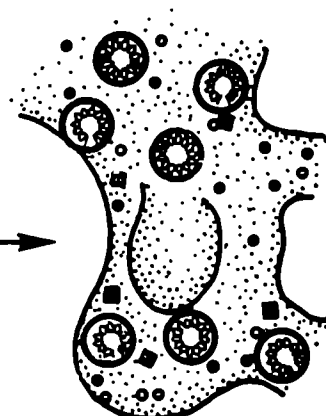
10



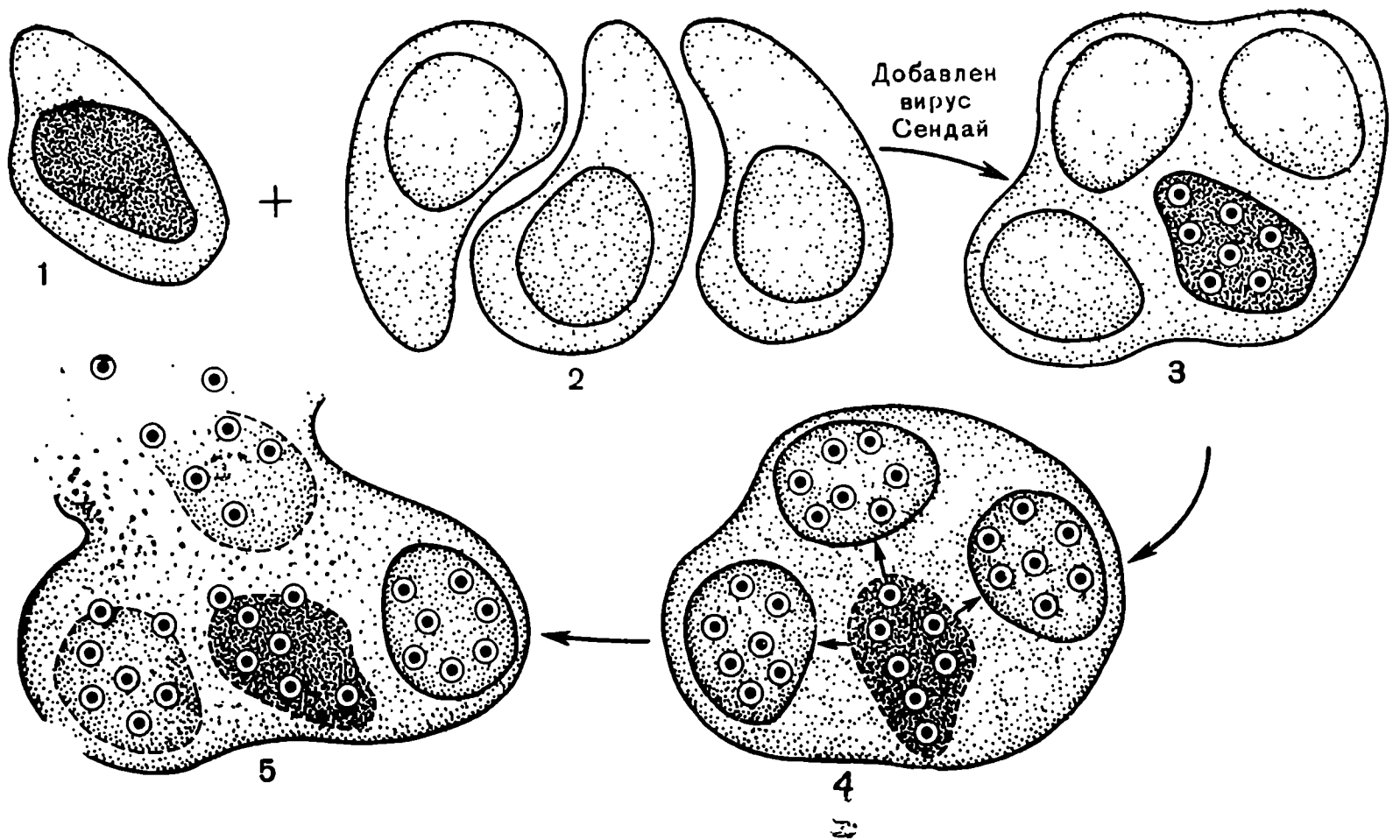
11



12



13



Выявление генома опухолеродного вируса путем слияния с чувствительными клетками в присутствии вируса Сендай

1 — трансформированная клетка; 2 — чувствительные к вирусу клетки; 3 — слияние клеток, образование гетерокариона. В ядре трансформированной клетки активируется наследственный аппарат вируса и начинается размножение вирусных частиц; 4 — вторичное размножение вируса в ядрах чувствительных клеток; 5 — выделение вирусных частиц и разрушение клетки (по Ф. Рэппу)

Между ними образуются цитоплазматические мостики. Эти мостики расширяются до тех пор, пока клетки не сольются полностью, и в одной клетке окажутся заключенными два или несколько ядер.

Слияние может произойти между одинаковыми и разными клетками одного и того же вида, между клетками разных видов и даже разных классов животных. Образующиеся гибридные клетки называют *гетерокарионами*³⁷.

При слиянии клеток — трансформированной вирусом и чувствительной к нему — создаются условия, благоприятные для размножения вируса. Возможно, в последних имеется какой-то фактор, необходимый для продукции вирусных частиц. Как только этот фактор накапливает-

под влиянием ультрафиолетовых лучей, повреждающих его геном, вирус сохраняет способность вызывать слияние клеток.

³⁷ Гетерокарион — от греческих слов «карион» — ядро и «гетеро» — разнородный.

ся в нужном количестве, начинается образование вирусного потомства.

Для выявления в опухолевой клетке хомяка вируса ОВ40 в опыте слияния используют клетки зеленой мартышки, под влиянием которых образуются зрелые частицы вируса. Они переходят и в обезьяньи ядра. В клетке гетерокариона их накапливается все больше и больше, пока она не разрушается. Гибель многих клеток легко регистрируется в культуре ткани. Жидкость из такой культуры, освобожденная от клеток, содержит инфекционный вирус, способный трансформировать другие нормальные клетки хомяка. Но как только нормальная клетка переходит в злокачественную, вирусные частицы снова не удается обнаружить.



РЕНАТО ДУЛЬБЕККО

Методом слияния с чувствительными клетками и другими способами во многих случаях удалось доказать, что в трансформированных клетках наследственное вещество вируса есть. Но где же оно скрывается? Чтобы ответить на этот вопрос, использовали метод гибридизации нуклеиновых кислот.

Из вирусных частиц выделили чистые сверхскрученные молекулы ДНК без примеси ДНК клетки и искусственно получили комплементарные к ним препараты РНК, в которые ввели радиоактивную метку. Затем отдельно из цитоплазмы, ядер и ядерного сока нормальных клеток и клеток, трансформированных вирусом ОВ40 и полиомы, получили ДНК. Каждую из этих ДНК использовали для гибридизации с меченой РНК.

Ни в цитоплазме, ни в ядерном соке опухолевых клеток вирусной ДНК не оказалось. Гибридизация удалась только с ДНК из ядер опухолевых клеток, точнее клеточных хромосом. Контрольные опыты гибридизации с ДНК нормальных клеток подтвердили этот вывод.

Но если в хромосомах опухолевой клетки содержатся два рода ДНК — клеточная и вирусная, то каковы их взаимоотношения? Опыты Р. Дульбекко и Г. Уэстфала, проведенные в Калифорнии (США), показали, что ДНК вируса прочно связывается с ДНК клетки.

Обработка препарата ДНК, полученного из ядра опухолевой клетки щелочью, не нарушает связи между вирусной и клеточной ДНК. Такой препарат дает гибрид с РНК, комплементарной к вирусу. Гибрид содержит ДНК с большим молекулярным весом, чем ДНК вируса. Это важный аргумент в пользу предположения о прочной, устойчивой к действию щелочи связи ДНК вируса с ДНК клетки.

Итак, вирусная ДНК, видимо, находится в составе клеточной.

В наш век математизации биологии это включение генома было названо «интеграцией». Большинство ученых утвердилось в мысли, что трансформированная клетка имеет «интегрированный» геном, включающий вирусный наследственный материал. Здесь в хромосомах клетки — тайное убежище опухолеродного вируса.

ОПАСНЫ ЛИ ДЕФЕКТНЫЕ И УБИТЫЕ ВИРУСЫ

После того как ученые узнали точный адрес вируса в клетке, возникли новые вопросы. Может ли один-единственный наследственный аппарат вируса, ничтожно малый по сравнению с клеточным, вызвать все глубокие изменения, связанные с переходом клетки в злокачественное состояние? А не командуют ли в клетке много вирусных геномов, целый вирусный «штаб»?

Уэстфал и Дульбекко провели специальные исследования и убедились, что в ядре опухолевой клетки находится от 5 до 20 молекул ДНК вируса полиомы и от 5 до 60 вируса ОВ40. По более поздним подсчетам, в опухолевой клетке содержатся от одной до трех копий наследственного аппарата вируса ОВ40. Проверочные опыты снова дали несовпадающие результаты. Какой из расчетов правилен, пока сказать трудно. Наиболее вероятная цифра — два-три генома ОВ40 на клетку.

Уточнить этот вопрос попытались другим путем. Поскольку число образующихся частиц вируса зависит от количества вирусного наследственного вещества в клетке, применили уже известный нам метод слияния. Результат получился неожиданный: между количеством возникших частиц и геном вируса прямой связи не обнаружилось. После детального анализа объяснение нашлось: в «штабе» вируса наряду с нормальными были и неполноценные геномы, полностью лишенные способности давать потомство инфекционных частиц.

Итак, снова явление дефектности: дефектные ДНК опухолеродного вируса в опухолевой клетке, дефектные вирусные частицы. А не играют ли они какую-нибудь роль в превращении клетки в опухолевую?

Трансформация ведь всегда сопровождается подавлением поздних функций. Может быть, вирусные частицы не образуются именно из-за неполноценности генома трансформирующего вируса?

В первую очередь следовало выяснить, сохраняют ли дефектные вирусы вообще способность к трансформации клетки.

Такие опыты были проведены одновременно у нас в стране А. Д. Альтштейном, в США — В. Дефенди и Ф. Йенсеном. Для опытов выбрали нормальную культуру, в которой вирус ОВ40 вызывает и гибель и трансформацию клеток. Введение в такую культуру дефектных вирусных частиц приводило к глубоким изменениям: вид и свойства культуры резко менялись, появлялись очаги опухолевых клеток.

Итак, подозрение, которое пало на дефектные частицы, имело под собой основание. Но какие из частиц — нормальные или дефектные — обладают большей способностью к трансформации?

Ответ на этот вопрос получили в опыте с ультрафиолетовым облучением вирусных частиц, которое изменяет наследственное вещество вируса, его нуклеиновую кислоту. Облученные частицы вызывали образование антител и трансформировали клетки, но не давали потомства, т. е. вели себя так же, как естественные дефектные вирусы. По сравнению с исходными частицами они легче превращали нормальные клетки в опухолевые. Следовательно, дефект нуклеиновой кислоты давал им в этом отношении даже некоторые преимущества.

В клетке при длительной скрытой инфекции может накапливаться большое количество дефектного вируса. Не исключена и такая ситуация, когда в ней окажутся исключительно неполноценные частицы, передающиеся дочерним клеткам при делении.

Как поведут себя подобные жильцы? Они могут долго сосуществовать с клеткой. Но при нарушении установившегося равновесия вызывают глубокие изменения — вплоть до трансформации.

В клетках, не допускающих размножение вируса, нормальные вирусные частицы, подобно дефектным, не в состоянии осуществить поздние функции, произвести на свет потомство, хотя способны их трансформировать. Дефектность вирусных частиц бывает, таким образом, не только структурной, но и функциональной, когда некоторые вирусные гены не находят условий для своего проявления.

Твердо установлено, что один и тот же вирус ведет себя не одинаково в различных клеточных системах. Например, вирус ОВ40 дает потомство в клетках зеленых мартышек, но дефектен в клетках хомяков. Подавление поздних функций, определяющих функциональную дефектность вируса, по-видимому, — важный момент в его опухолеродном действии. Функциональная дефектность связана со свойствами клетки-хозяина. Следовательно, характер инфекции определяется не только наследственным аппаратом вируса, но и клеточными факторами. Это особенно убедительно демонстрируется в опытах слияния.

Принадлежность к тому или иному виду, линии, клеточному типу отражается на чувствительности к вирусу. Во многих случаях установлено влияние определенного гена или генов хозяина на вирусную активность. Возможно, здесь играет роль отсутствие или недостаточная выработка какого-либо фермента, необходимого для размножения вируса, или фактора другого рода, подавляющего вирусные функции. Но пока причина большей или меньшей чувствительности клеток в пределах типа, линии, вида и т. д. еще не известна.

В этом отношении интересны опыты с гибридами клеток человека и мыши. Эти гибридные клетки отличались по количеству человеческих и мышиных хромосом. Их инфицировали четырьмя вирусами: вирусом полиомы, ОВ40, аденовирусом 12-го типа и вирусом полиомиелита. Каждый из этих вирусов размножается только в одном

из двух видов клеток — или в человеческих, или в мышинных. Оказалось, что чувствительность гибридных клеток к вирусной инфекции зависит от их хромосомного состава. Видимо, для размножения вируса в клетке должны находиться какие-то определенные хромосомы. В этих опытах выяснилось также существование в клетках веществ-*репрессоров*, не допускающих размножение вируса.

Итак, имеются хромосомы, «критические» для продукции вирусных частиц. Но существуют ли хромосомы, безусловно необходимые для трансформации? Связывается ли геном опухолеродного вируса с любой или с какой-то особой (или особыми) хромосомами клетки? Этот вопрос также подвергли экспериментальному изучению. Независимо от того, нормальный или дефектный вирус инфицирует клетку, в ней образуется Т-антиген, указывающий на наличие генома опухолеродного вируса.

В 1971 г. М. Вейсс с коллегами получили гибриды из трансформированных вирусом ОВ40 клеток человека и мыши, в которых количество человеческих хромосом в гибридах постепенно снижалось при культивировании, но Т-антиген присутствовал в них до тех пор, пока не исчезли все человеческие хромосомы. Поскольку Т-антиген указывает на присутствие генома вируса, можно думать, что последний находится решительно во всех хромосомах. Но не исключено другое: именно те хромосомы, которые содержат геном вируса, наиболее устойчивы и сохраняются в гибридной клетке. Вопрос этот пока остается открытым.

Ранее мы упомянули о том, что дефект нуклеиновой кислоты вируса можно вызвать искусственно. Не только ультрафиолетовые лучи, но и некоторые канцерогенные вещества и другие виды воздействий вызывают в наследственном веществе вируса изменения, в результате которых он теряет способность размножаться, однако вызывает образование антител и трансформацию. Искусственно полученные и естественные дефектные вирусы не отличимы друг от друга. Не приоткрывают ли эти данные завесу над механизмами действия химических и физических канцерогенов?

Многие виды коротковолнового излучения и химические канцерогенные вещества способны проникать через клеточные оболочки во внутреннюю среду клетки и влиять на происходящие там процессы. Их вмешательство может

распространяться не только на клеточные, но и на вирусные структуры, которые находятся в клетке (в частности, на вирусные нуклеиновые кислоты), вызывая в них те или иные дефекты. Не исключено, что появление множества дефектных частиц, утративших способность к размножению, изменяет внутреннюю ситуацию и клетка оказывается неспособной противодействовать повышенной трансформирующей активности вируса.

Конечно, в условиях целостного организма таким действием обладают лишь агенты, легко проникающие через многочисленные разнородные клеточные мембраны, т. е., по нашему с И. А. Рапопортом определению, обладающие высоким *«градиентом проникновения»*. С этой точки зрения представляет опасность всякое бесконтрольное использование сильнодействующих химических веществ, гормонов и облучения без тщательного медицинского наблюдения.

Изучение дефектности очень важно для выявления генов вируса, связанных с его опухолеродностью, для выяснения механизма опухолевого преобразования клетки. Оно открывает новые пути поисков опухолеродных агентов у человека. Возможно, именно их дефектность служит тут препятствием.

Наконец, данные о трансформирующей активности вирусов с дефектом нуклеиновой кислоты имеют значение для вакцинного производства. Оказывается, что, «убивая» вирусы для изготовления вакцины, мы не ограждаем себя полностью от опасности, так как при этом могут возникнуть дефектные формы. Следовательно, каждая инактивированная, «убитая» вакцина должна еще испытываться на отсутствие опухолеродности. Сейчас такая проверка производится в обязательном порядке.

Итак, онковирусология учит: необходимо быть на страже против врага и живого и убитого.

ВИРУС МЕНЯЕТ ЖИЗНЬ КЛЕТКИ

Превращению нормальной клетки в опухолевую под влиянием вируса способствуют в первую очередь ее наследственные особенности и физиологическое состояние. Зародышевые, быстрораствующие, размножающиеся, облученные,

с дефектами наследственного аппарата клетки наиболее чувствительны к действию опухолеродного вируса. При заболеваниях, в основе которых лежат изменения хромосом, клетки превращаются в опухолевые во много раз легче. Влияют также количество и особенности инфицирующего вируса. Теоретически для такого превращения достаточно одной вирусной частицы или одной молекулы вирусной ДНК. На самом деле, даже при наличии очень многих частиц трансформируются не все клетки, а лишь небольшая их часть. Например, если ввести в мышинные клетки по одной или по несколько частиц вируса ОВ40 на клетку, в опухолевые превратится не более 40%, а при инфекции вирусом полиомы клеток хомяка — 5%.

Чем это обусловлено? Возможно, играют роль особенности включения вирусного наследственного вещества в клеточное, а также фаза, в которой вирус застаёт клетки.

Для внедрения ДНК вируса в наследственный аппарат клетки нужен синтез ее ДНК. В этом синтезе, как известно, участвуют ферменты. Опухолеродные вирусы стимулируют их образование, переводя клетку из первой фазы роста G_1 в фазу синтеза — S . В момент удвоения клеточной ДНК связь ее с белком ослабляется и создается возможность соединения с вирусной ДНК.

Теперь мы подошли к весьма сложному вопросу, в котором многое еще остается неясным. Как ведет себя ДНК опухолеродного вируса после включения в ДНК клетки?

Включение вирусной ДНК не препятствует переписыванию информации с ДНК клетки, но оно происходит теперь под командой вируса. В ядре клетки появляются молекулы РНК со специфичной для вируса последовательностью нуклеотидов, превышающие по своей длине одну полную молекулу вирусной ДНК. Сначала это наблюдение вызвало удивление. Ведь в цитоплазме трансформированных клеток на рибосомах всегда обнаруживались молекулы информационной вирусной РНК значительно меньшей длины, чем молекулы вирусной ДНК. Детальные исследования подтвердили, что «длинные» РНК являются смешанными, вирусно-клеточными. В них записана последовательность нуклеотидов как вирусной ДНК, так и прилежащего участка клеточной ДНК. Как они возникают?

Процесс переписывания всегда начинается с особого участка ДНК, называемого *промотором*, и идет до сле-

дующего промóтора³⁸. При внедрении молекулы ДНК вируса в ДНК клетки между двумя промоторами могут оказаться участки клеточной и вирусной ДНК. Это одно из возможных объяснений. Что же происходит с большими молекулами РНК? «Клеточная» их часть разрушается, а оставшаяся в виде информационной вирусной РНК переходит в цитоплазму. Поэтому-то цитоплазматические иРНК по размерам значительно меньше ядерных. Они строго специфичны, и установить это помог метод гибридизации. Цитоплазматические иРНК гибридизуются только с вирусной ДНК.

А каким образом удаляется из смешанной РНК часть нуклеотидов с клеточной специфичностью? Ответа на этот вопрос еще нет, но он прояснит многое. Во всяком случае в трансформированной клетке на рибосомах оказывается вирусная иРНК, передающая информацию для синтеза белковых молекул.

Особенность транскрипции с ДНК вируса в условиях ее слияния с наследственным веществом клетки в том, что информация переписывается не со всей, а только с части молекулы вирусной ДНК. Подсчитано, что в клетках, трансформированных вирусом полиомы и ОВ40, переписывается от 30 до 80% вирусного генома, примерно от двух до шести генов. При этом поздние функции — синтез вирусной ДНК и белков вирусной оболочки — подавлены, и вирусные частицы не образуются.

О механизме подавления поздних функций вируса высказано несколько предположений. Согласно одному из них, в клетках, трансформированных вирусом ОВ40, находится репрессор, который препятствует проявлению поздних генов вируса. В неинфицированных культурах чувствительных клеток содержится белок-антирепрессор, подавляющий активность репрессора. При трансформации антирепрессор исчезает. В клетках, «не допускающих» размножение вируса, его также нет, и репрессор мешает вирусу осуществить поздние функции.

Другое объяснение основывается на действии особых веществ, определяющих, с каких генов произойдет транскрипция. Предполагается, что в проявлении ранних и поздних генов участвуют два таких вещества. Одно влияет на транскрипцию ранних генов в клет-

³⁸ От латинского слова «промóвео» — двигать вперед, приводить в движение.

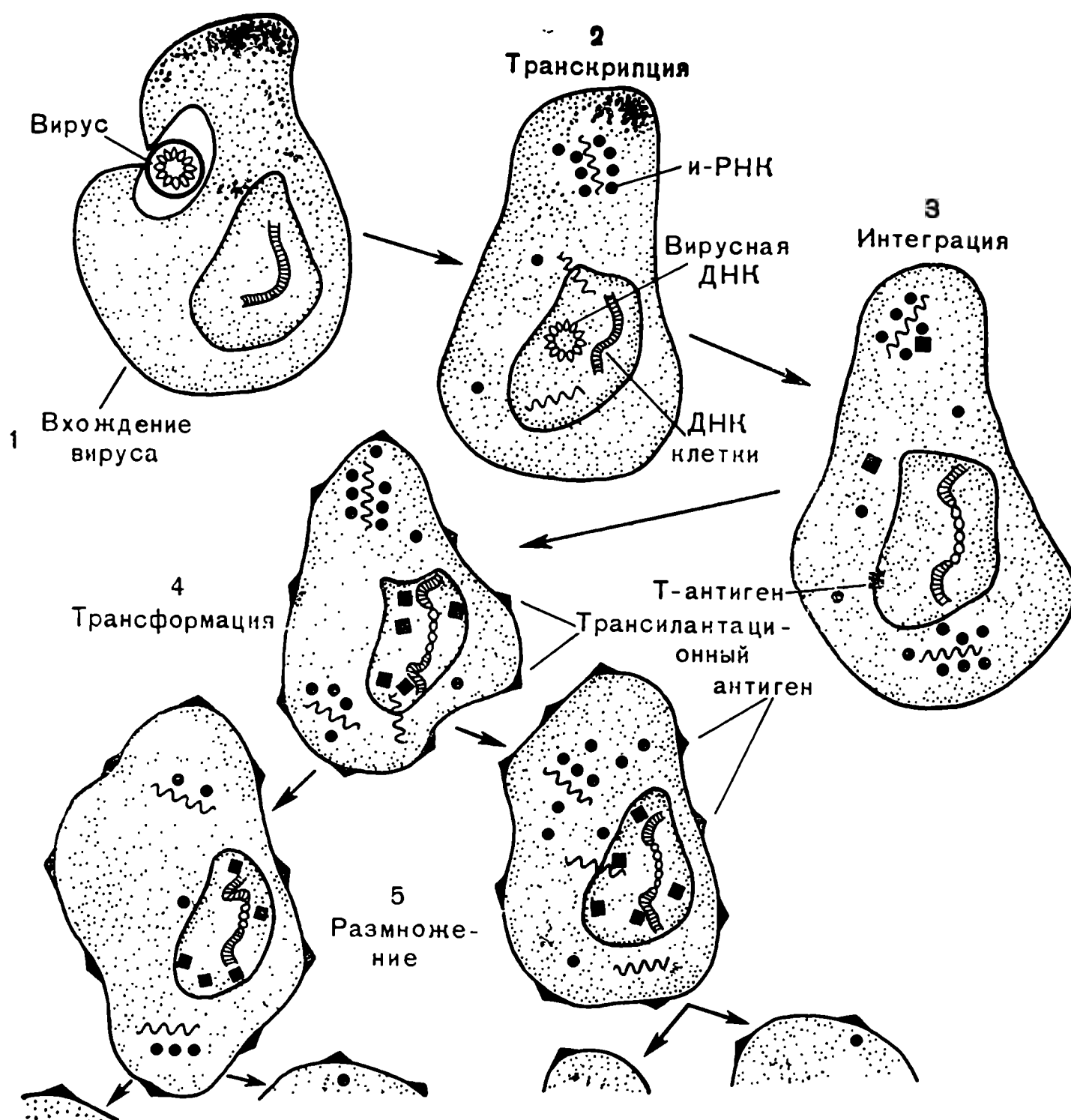
ках, «не допускающих» и «допускающих» размножение вируса, другое находится только в клетках, «допускающих» размножение вируса, обеспечивая транскрипцию поздних генов. Эти интересные данные, полученные в США Дж. Самбруком, нуждаются в дальнейшей разработке.

Какие еще изменения могут вызвать в клетке ранние гены? Вначале мы говорили, что в прошлом веке М. А. Новинский установил способность опухолевых клеток перевиваться от одного животного другому того же типа. Такая перевивка, или трансплантация, удается не всегда. Во времена Новинского еще не знали о существовании клеточных антигенов, которые, подобно групповым факторам крови, вызывают при несовместимости образование антител и отторжение, рассасывание введенных клеток.

Раус обнаружил у кур с рассасывающимися саркомами антитела двух родов — против вируса и против опухолевой клетки. Если таким курам вводили вирус куриной саркомы, опухоли не возникали, а пересаженные саркоматозные клетки рассасывались.

Позднее выяснилось, что при превращении нормальной клетки в опухолевую на ее оболочке появляется особый антиген, который препятствует пересадке, вызывая образование специфических антител. Он был назван *трансплантационным*. Клетки приобретают этот антиген после включения в их наследственное вещество ДНК вируса. В отличие от опухолевого Т-антигена, который в эту фазу уже находится в ядре, трансплантационный антиген располагается на клеточной мембране. Он обладает вирусной специфичностью, т. е. каков вирус, таков и антиген, независимо от вида инфицированного животного. Если, например, взрослому хомяку ввести вирус и вызвать таким образом продукцию антител, а затем привить клетки, трансформированные этим же вирусом, то они не приживутся и будут отторгнуты организмом. Это произойдет в результате взаимодействия трансплантационного антигена с антителами. Прививка этому же хомяку клеток, трансформированных другим вирусом, может быть успешной, так как антитела не свяжут их трансплантационные антигены.

Появление трансплантационного антигена — это не единственное изменение, которое претерпевает внешняя оболочка клеток под влиянием опухолеродного вируса.



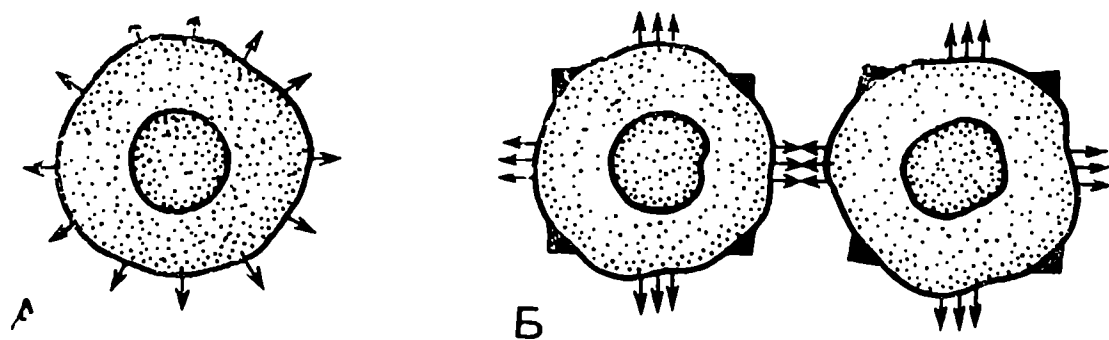
Последовательность событий при трансформации клетки вирусом OB40

1 — проникновение инфекции в клетку; 2 — переписывание информации с ранних вирусных генов; 3 — образование Т-антигена, активация ферментов, участвующих в синтезе ДНК, интеграция ДНК вируса и ДНК клетки; 4 — появление поверхностных трансплантационных антигенов и переход клетки в трансформированное состояние; 5 — начало бесконтрольного клеточного деления (по Ф. Рэппу)

Есть в ней особые участки — рецепторы, которые связываются с растительными веществами — *агглютинидами*³⁹, вызывающими склеивание клеток. Эти рецепторы глубоко спрятаны в оболочке и только в фазе деления (фазе *D*) открыты для действия растительных агглютининов. Следовательно, между «обнажением» рецепторов и клеточным делением имеется определенная связь.

³⁹ От латинского слова «агглютино» — приклеивать.

Обычно рецепторы располагаются равномерно по поверхности клетки. Но при трансформации ее вирусом они перераспределяются, сгущаются на отдельных участках оболочки и «обнажаются». В норме подобное состояние рецепторов кратковременно. В трансформированной же клетке они открыты постоянно.



Перераспределение рецепторов

А — нормальная клетка, Б — трансформированные клетки. Сгущивание рецепторов способствует их склеиванию

Эти изменения, по-видимому, связаны с дефектом в структуре оболочки, образующимся под прямым влиянием наследственного вещества опухолеродного вируса.

Благодаря сгущиванию и обнажению рецепторов опухолевые клетки гораздо легче склеиваются растительными агглютинаинами.

Какую роль играет состояние рецепторов в жизни клетки? Чтобы выяснить этот вопрос, ученые предприняли попытку «открыть» рецепторы в нормальных покоящихся клетках. Их обрабатывали расщепляющим белки ферментом трипсином. После этого клетки легко склеивались и одновременно выходили из покоящегося состояния: началось деление ядер, а вслед за ним — образование клеточного потомства. Итак, еще раз подтвердилась связь между событиями на клеточной оболочке и в ядре. Не таким ли способом — путем открытия рецепторов — вызывает опухолеродный вирус непрекращающееся деление клеток?

Установлено, что протеазы — ферменты, расщепляющие протеины⁴⁰, в том числе и упомянутый нами трипсин, — понижают уровень очень важного регуляторного вещества в клетке — цАМФ (циклический аденозин-3,5 —

⁴⁰ Протеины — белки («протос» по-гречески первый, важнейший).

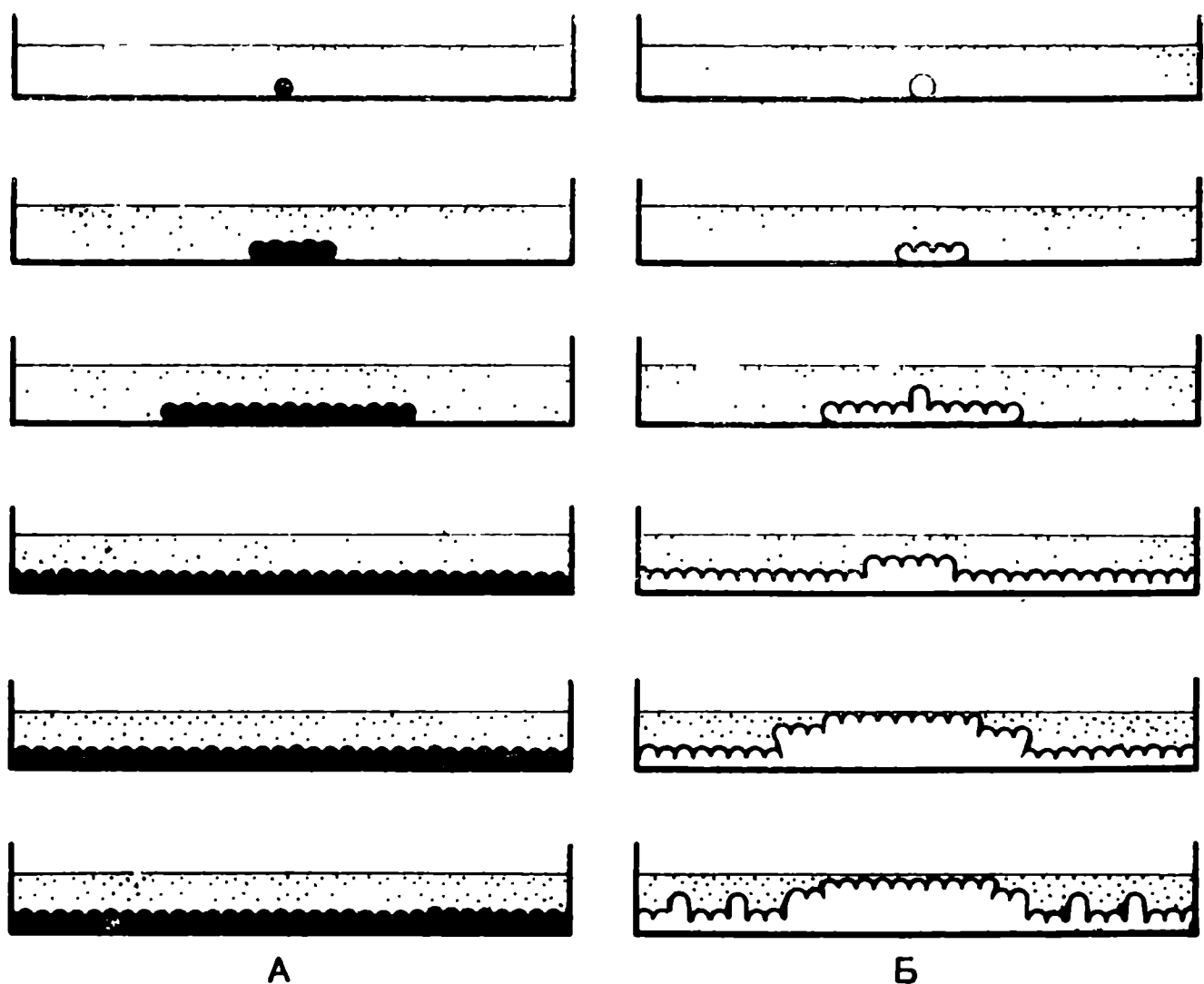
монофосфат). Это вещество открыто недавно, в 1957 г. Однако уже выяснено его большое значение в осуществлении многих функций живого организма, в регуляции деления клеток и их специализации. Падение уровня цАМФ в клетке — сигнал к клеточному делению. В естественных условиях после деления клетки уровень цАМФ повышается, и клетки переходят в состояние покоя. Таким образом все агенты, снижающие уровень цАМФ, стимулируют деление клеток. Эта способность резко выражена у опухолеродных вирусов. Скорее всего вирус действует опосредованно — через подавление активности аденилатциклаз, которые находятся на клеточной поверхности и участвуют в синтезе цАМФ.

В трансформированных клетках уровень цАМФ всегда низкий, но если искусственно поднять его, то по внешним проявлениям они станут неотличимы от нормальных. Такой возврат к нормальному виду называется *реверсией*⁴¹. При этом изменяется поведение клеток по отношению друг к другу, или, как иногда говорят, их «общественное» поведение.

Теперь мы переходим к еще одной особенности опухолевых клеток: утрате ими контактной задержки. Обычно, как только две клетки приходят в контакт друг с другом, их дальнейший рост и размножение приостанавливаются. Именно это свойство — контактная задержка, или торможение, — обеспечивает получение однослойных клеточных культур. Опухолевая клетка отнюдь не так «благовоспитанна», как нормальные. Она не считается с другими клетками и продолжает размножаться после контакта. Наползая друг на друга, опухолевые клетки образуют скопления, узелки, очаги разрастания.

В чем сущность контактной задержки? Согласно взглядам одной группы ученых, контакт двух клеток оказывает прямое тормозящее влияние на синтез клеточной ДНК; нарушение контактной задержки снимает это ограничение, и начинается бесконтрольное размножение. Есть и другие точки зрения. При контакте двух клеток закрываются рецепторные участки клеточной оболочки, через которые во внутреннюю среду поступают факторы роста, и клеточное размножение приостанавливается. Таким образом, контактная задержка оказывает не прямое влияние на деление клеток.

⁴¹ От латинского слова «реверсио» — возврат, возвращение.



Рост нормальных и раковых клеток на твердой поверхности

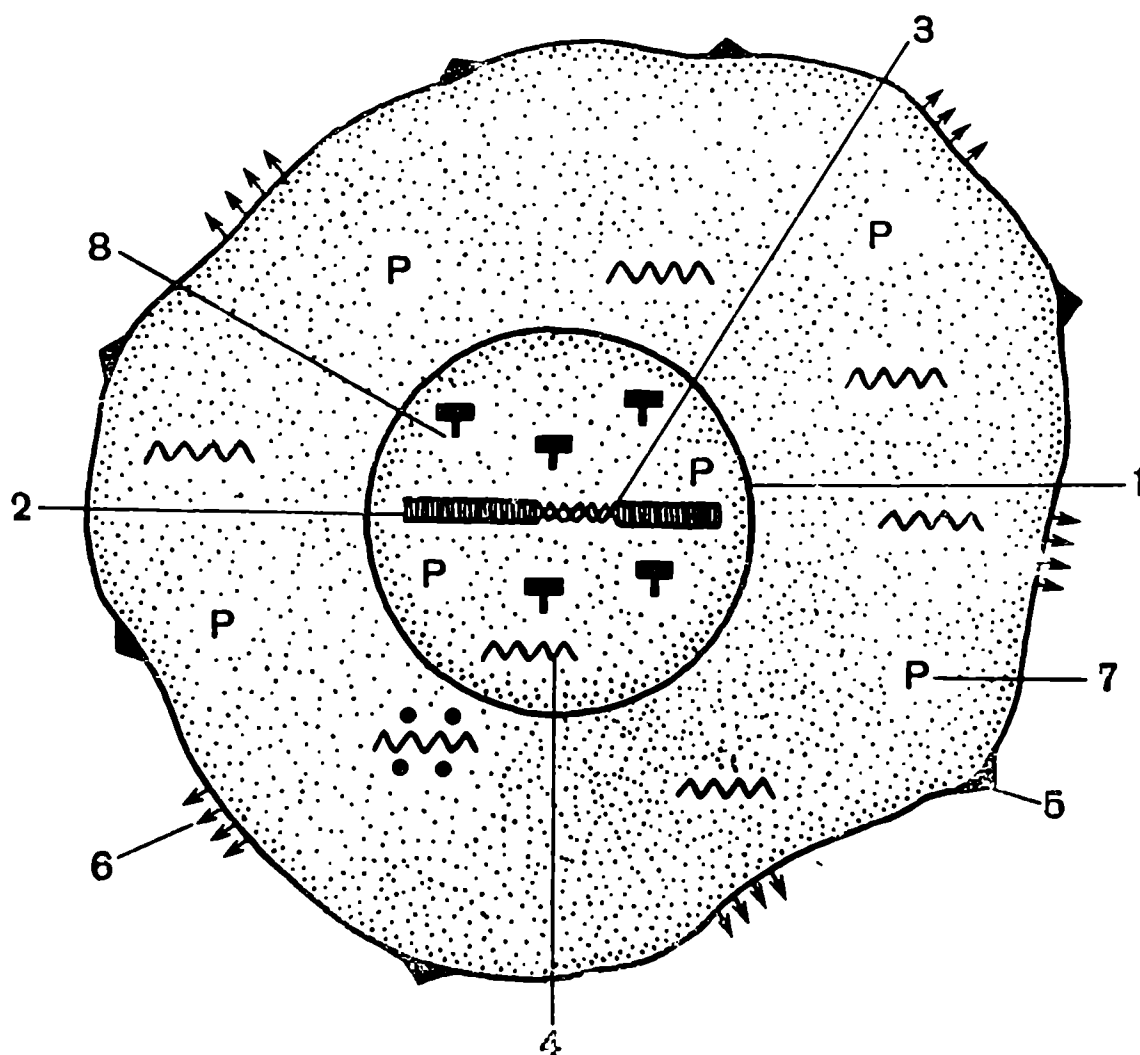
А — нормальные клетки, Б — опухолевые. Деление нормальных клеток прекращается, как только они заполняют одним слоем всю поверхность. Опухолевые клетки, быстро и беспорядочно делясь, образуют узелки (по Дж. Уотсону)

Высказано также предположение, что при контакте двух клеток прекращается синтез особых молекул клеточной оболочки, дающих сигнал для синтеза ДНК. При трансформации клетки продолжают синтезировать ДНК и делиться даже после контакта. Таким образом, этот тип регуляции клеточного деления отпадает.

Вопрос о механизме контактной задержки не решен еще окончательно, но точно установлена связь между ее утратой и бесконтрольным клеточным размножением.

Опухолеродные вирусы, снижая тем или иным способом уровень цАМФ, создают условия для неограниченного клеточного размножения. При восстановлении уровня цАМФ «антиобщественное» поведение клеток сменяется обычным: контактная задержка восстанавливается, а вместе с ней — и нормальный клеточный цикл.

Следует указать, что, трансформируя клетку, опухолеродный вирус изменяет химический состав ее оболочек и, как следствие, обмен веществ. Образуется большое коли-



Трансформированная вирусом клетка

1 — ядро; 2 — хромосома клетки (заштрихована); 3 — ДНК вируса, включенная в хромосому клетки; 4 — вирусная иРНК, 5 — трансплантационный антиген; 6 — обнаженные и скученные места агглютинации; 7 — репрессор; 8 — Т-антиген.

чество *мукополисахаридов*⁴², накапливается сахар фукоса, нарушается транспорт углеводов и других веществ.

Изменение клеточной оболочки — необходимое звено при выводе клетки из состояния покоя. Оно обеспечивает начало синтеза ДНК. Поскольку с поверхностью клетки связана регуляция клеточного деления, свойства и особенности клеточной оболочки при трансформации усиленно изучаются.

Существуют теории, согласно которым опухолевое превращение связано с изменениями, претерпеваемыми именно клеточной оболочкой. Такую гипотезу разрабатывают у нас Ю. М. Васильев, Л. Б. Меклер, а также и мы совместно с И. А. Рапопортом и Д. М. Левиной, беря за основу влияние вызываемых опухолеродным вирусом ферментативных сдвигов. Ведь ядро занимает в клетке подчиненное положение; если в здоровой клетке заменить

⁴² Мукополисахариды — сложные углеводы слизистой консистенции, поллатыни «мукос» — слизь.

его ядром опухолевой, то нормальные функции сохраняются.

Все же многообразие «участников» вирусной трансформации, сложность взаимоотношений между ними, а главное, значительные пробелы в наших знаниях еще не дают основы для построения синтетической теории опухолевого превращения.

Изменяя поверхностные свойства клетки, опухолеродный вирус тем самым объявляет ей «свободу размножения». Трансплантационные антигены служат как бы сторожевыми постами, препятствующими возврату к старому нормальному режиму жизнедеятельности клетки. Их «бдительность» очень важна для удержания «нового порядка».

ИНТЕГРАЦИЯ ВИРУСА И ТРАНСФОРМАЦИЯ КЛЕТКИ

Данные о включении вирусного наследственного материала в ДНК клеточного ядра, естественно, вызвали вопрос, всегда ли оно сопровождается переходом клетки из нормального состояния в злокачественное. Можно ли ставить знак равенства между интеграцией геномов и трансформацией клетки?

Точно установлено, что это не одно и то же. Находясь в составе наследственного аппарата клетки, вирусные гены могут быть подавлены частично или полностью. Инфекция будет скрытой.

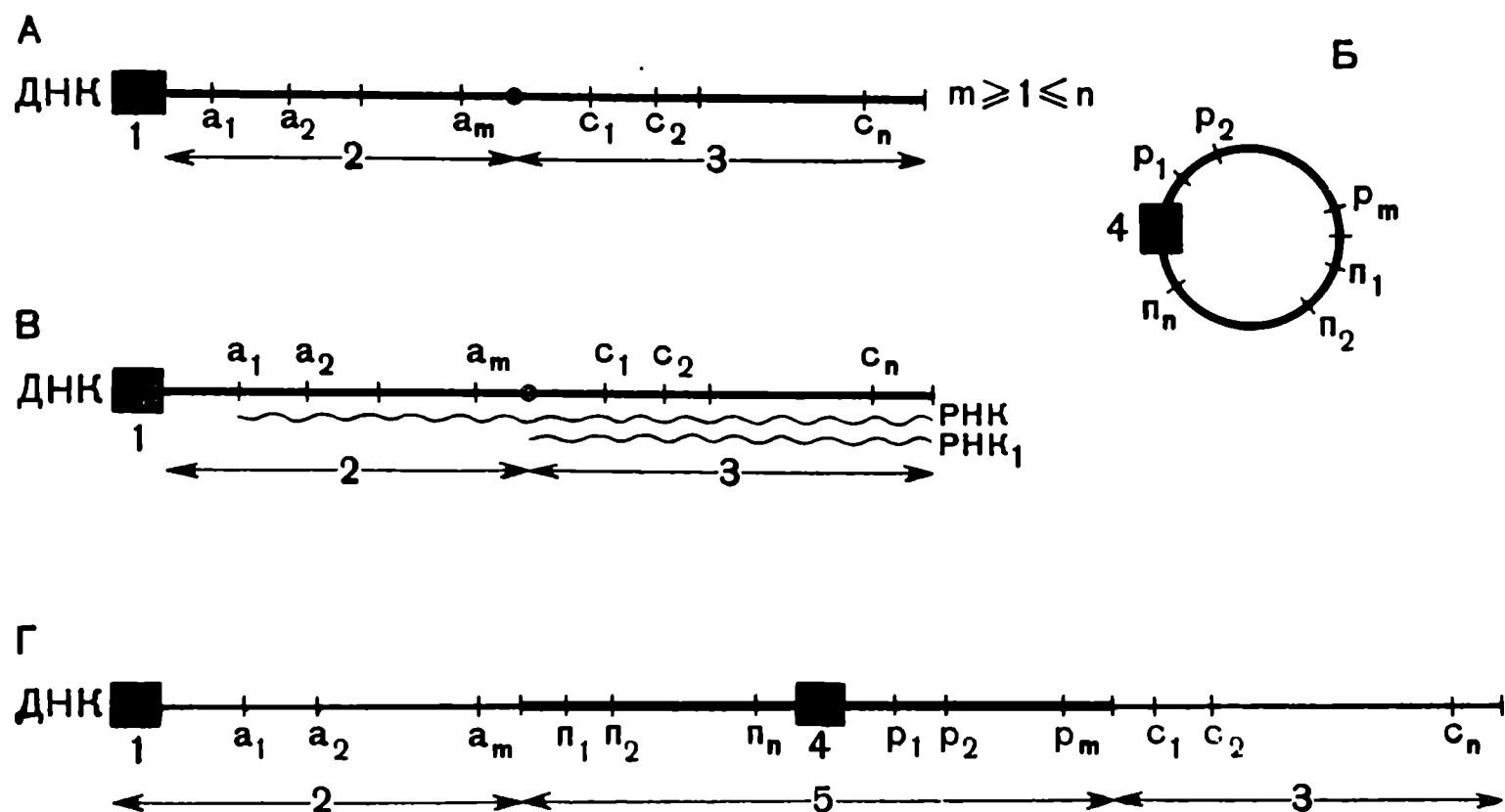
Что же определяет активность вирусных генов или, наоборот, приводит их в состояние «оцепенения»?

Интересную гипотезу на этот счет высказал советский ученый Г. П. Георгиев. Она основана на следующих современных данных о работе наследственного аппарата.

Информация обычно передается не с одного, а сразу с ряда генов. Участок ДНК, с которого переписывается одна непрерывная цепь РНК, носит название *оперона*⁴³, т. е. деятельного участка. В опероне различают две зоны: *акцепторную* — воспринимающую⁴⁴ и *информативную* —

⁴³ От латинского «опус», «опера» — дело, деятельность.

⁴⁴ От латинского слова «акцепто» — принимать.



Строение оперона и его функционирование

А — строение оперона: 1 — промотор, 2 — воспринимающая (акцепторная) зона; $a_1, a_2 \dots a_m$ — гены акцепторной зоны; 3 — информативная зона; $c_1, c_2 \dots c_n$ — гены, несущие информацию на синтез белков;

Б — кольцевая молекула ДНК вируса: 4 — вирусный промотор; $p_1, p_2 \dots p_m$ — ранние вирусные гены; $\pi_1, \pi_2 \dots \pi_n$ — поздние вирусные гены;

В — транскрипция оперона клетки. Фермент ДНК-полимераза продвигается вдоль оперона и переписывает информацию на РНК (волнистая линия) со всех генов акцепторной (2) и информативной (3) зон, но затем часть молекулы, соответствующая акцепторной зоне (2), разрушается в ядре, в цитоплазму на рибосомы переходит РНК₁ (иРНК), представляющая «слепок» с информативной зоны и несущая на рибосомы информацию для синтеза белков;

Г — включение вирусного генома (5) между акцепторной (2) и информативной (3) зоной ДНК клетки. Считывание информации в этих условиях с участка, следующего за вирусным промотором (4), выключает акцепторную зону ДНК клетки (2). Информативная зона клетки (3) лишается контроля — начинается неограниченное клеточное размножение

передающую информацию. Воспринимающая зона в отличие от информативной не несет информации для синтеза каких-либо белков. Ее функция — принимать на себя белки-регуляторы транскрипции.

Каждая воспринимающая зона начинается с *промотора*. К нему присоединяется фермент — РНК-полимераза, которая продвигается вдоль ДНК, обеспечивая переписывание информации на РНК. С самого промотора информация не переписывается.

Информативная зона включает гены, в которых закодирована информация для образования белков. В их числе белки, входящие в состав клетки (*структурные белки*)

или участвующие в обменных реакциях (ферменты), либо необходимые для регуляции транскрипции (*регуляторные белки*, репрессоры, дерепрессоры, индукторы). В опероне может быть много генов или только один.

Транскрипция происходит со всего оперона, поэтому образующаяся РНК представляет «отпечаток» или «слепок» с обеих зон, акцепторной и информативной. Одна часть этой гигантской молекулы, соответствующая акцепторной зоне, разрушается в ядре, и в цитоплазму на рибосомы поступает только «отпечаток» с генов, несущих ту или иную наследственную информацию для синтеза белка.

Какую же роль играет в транскрипции оперона акцепторная зона? Оказывается, очень большую. Именно через акцепторную зону регулируется весь процесс переписывания информации. Присоединение репрессора прерывает продвижение фермента и транскрипцию, а дерепрессор может ее восстановить.

Рассмотрим гипотезу Георгиева.

Подобно клеточному оперону, вирусный геном имеет по крайней мере один промотор. Включаясь в ДНК клетки, он вносит в нее дополнительный промотор. Теоретически это может произойти в разных зонах оперона (акцепторной и информативной) или между ними. В последнем случае акцепторная зона клеточного оперона полностью выключится, и регуляторные белки клетки не будут уже оказывать влияние на деятельность вирусных генов, переписывание произойдет независимо от них.

Результат транскрипции зависит также от того, где окажется вирусный промотор по отношению к ранним и поздним вирусным генам. Если в процесс переписывания включаются и ранние и поздние гены вируса, в клетке начинается накопление вирусных частиц, которые в конце концов могут привести ее к гибели. Если поздние гены окажутся впереди вирусного промотора и информация с них не будет «переписываться», инфекция примет абортивный характер, вирусные частицы не появятся.

Судьба клетки зависит также от характера оперона, в который внедрился геном вируса. Если этот оперон управляет синтезом ДНК или другими процессами, связанными с размножением, клетка, выйдя из-под влияния регуляторных механизмов, начнет безудержно размножаться. Она будет вести себя в организме как злокаче-

венная. Конечно, эта клетка может быть разрушена с помощью защитных сил организма. Но если подобных клеток окажется много или защитные факторы будут недостаточно активны, начнется опухолевый рост.

Теоретически возможны и многие другие варианты «включения» генома вируса. Например, если вирусный промотор окажется в начале или в середине акцепторной зоны клеточного оперона, регуляция оперона в большей или меньшей мере сохранится. Если при этом размножение вируса будет выключено, может возникнуть доброкачественный или частично регулируемый рост (например, при опухолях, рост которых зависит от гормона).

Вот еще один из мыслимых вариантов «включения». Вирусный генем оказывается в конце клеточного оперона, выполняет ранние свои функции, но не влияет на транскрипцию клеточных генов. Клетка не гибнет и не «болеет», инфекция носит скрытый характер. Такая клетка на неопределенно долгое время станет носительницей генов опухолеродного вируса, не претерпевая при этом никаких изменений.

Такова в общих чертах гипотеза Георгиева, разработанная применительно к ДНК-содержащим опухолеродным вирусам.

Как осуществляется включение вирусного наследственного вещества в сложный нуклеопротеиновый генем клетки, остается не выясненным. Может ли в действительности опухолеродный вирус включиться в любое место ДНК или его возможности ограничены определенными участками? Много ли этих участков и как они расположены в хромосоме? На эти вопросы ответа еще нет.

Но уже сейчас представляется ясным, что процесс интеграции двух разнотипных геномов — нуклеинового и нуклеопротеинового — сложен.

Предполагают, что в нем участвуют специфически действующие ферменты, которые «узнают» какие-то определенные точки в молекуле ДНК. Как это мыслится?

В основе «узнавания» лежит *гомология*, т. е. наличие в ДНК клетки участков, сходных по последовательности нуклеотидов с вирусной ДНК. Процесс внедрения обеспечивается особым ферментом, находящимся в составе опухолеродного вируса, — *никазой*⁴⁵. Никаза участвует в син-

⁴⁵ От английского слова «ник» — разрыв, прорез.

тезе наследственного вещества вируса, разрывая кольцо его нуклеиновой кислоты.

Под влиянием этого же фермента образуются разрывы в строго определенных местах линейной молекулы ДНК клетки, соответствующих концевым участкам вирусной ДНК, и это создает возможность для включения наследственного вещества вируса в клеточное. Восстановление целостности ДНК клетки производится находящимися в ней ферментами.

Важное условие для включения — синтез ДНК клетки. При удвоении ДНК синтезируемая нить в течение короткого промежутка времени находится в свободном, незащищенном состоянии. И только в этот момент никаза может «напасть» на нее. Ранние вирусные белки, побуждая клетку к делению, способствуют этому. Как только образуется разрыв, вирус внедряется в ДНК клетки. Включение вирусного генома в клеточный облегчают все факторы, стимулирующие синтез ДНК и деление клетки. В их числе канцерогенные вещества, ионизирующее и ультрафиолетовое облучение, мутагены.

Так в самых общих чертах представляется этот сложный процесс, в котором многое остается неясным.

ГРАНИ МЕЖДУ ВИРУСАМИ СТИРАЮТСЯ

Все, что известно об опухолеродных вирусах животных, ученые использовали для поисков вируса рака человека. Особое внимание привлекло то обстоятельство, что и мышинный вирус полиомы, и обезьяний вирус ОВ40 иногда вели себя как обычные инфекционные вирусы, разрушая чувствительные клетки.

Чем больше изучали взаимодействие опухолеродных вирусов с клетками, тем яснее становилось, что оно зависит от многих условий. Это согласовывалось с прежними наблюдениями.

Еще в 1940 г. американский ученый Ф. Дюран-Рейнальс показал, что если ввести вирус куриной саркомы Рауса не молодым курам, а только что вылупившимся цыплятам, вместо саркомы разовьется сосудистое заболевание, сопровождающееся кровоизлияниями. Другие опу-



ФРАНЦИСКО ДЮРАН-РЕЙНАЛЬС

ДЖОН ТРЕНТИН

холеродные вирусы также иногда оказывались причиной развития процессов неопухолевого характера: вирус полиомы мышей вызывал водянку мозга, карликовость, вирус *миксомы*⁴⁶ кроликов — воспалительные процессы в глазах, вирус саркомы мышей — параличи и т. д. Но если опухолеродные вирусы выступают в роли обычных инфекционных агентов, не может ли случиться обратное, не обладают ли инфекционные вирусы способностью вызывать при определенных условиях опухоли?

Подобные рассуждения привели группу ученых Хьюстонского университета в США во главе с Дж. Трентином к постановке простых и вместе с тем оригинальных опытов: к исследованию на опухолеродность инфекционных вирусов человека. Но таких вирусов очень много и надо было сделать выбор. Его остановили на аденовирусах, особенно распространенных у детей.

Аденовирусы, первоначально выделенные из разросшихся миндалин — аденоидов, вызывают воспаление верхних дыхательных путей, слизистой глаза и кишечника. Они часто обнаруживаются в миндалинах и у здоро-

⁴⁶ Миксома — доброкачественная опухоль слизистой консистенции.

вых людей. Длительное скрытое состояние — одна из характерных особенностей, сближающая аденовирус с вирусом полиомы и ОВ40. Как и последние, он относится к ДНК-содержащим и обнаруживается в ядрах инфицированных клеток.

Дж. Трентин, И. Ябе и Г. Тейлор ввели новорожденным хомякам несколько типов аденовирусов человека. В группе животных, получивших аденовирус 12-го типа, уже через несколько дней на месте введения стали появляться опухоли. Они развились у 8 из 10 хомяков. Из опытов напрашивался очень ответственный вывод. В повторном опыте опухоли появились у 33 из 35 подопытных животных. У контрольных животных, не получивших вируса, опухолей не было. Условия, в которых проводились исследования, не оставляли желать лучшего. Чтобы предотвратить заражение другими вирусами, для опытов построили особое здание.

Однако Трентина и его коллег не оставляли сомнения. Возможно, все-таки произошло заражение мышинным вирусом полиомы или обезьяньим вирусом ОВ40, и с ними связано развитие опухолей у хомяков? Специальные контрольные исследования полностью сняли это подозрение.

13 апреля 1962 г. на годовичном собрании американского общества онкологов в Атлантик-сити ученые выступили с коротким сообщением. Оно явилось полной неожиданностью для всех присутствующих. Инфекционные и опухолеродные вирусы обычно изучались обособленно. Само деление вирусов на две группы предполагало, что одни из них вызывают инфекционные заболевания, другие — опухоли. И вдруг...

Доклад Трентина стал также важнейшим событием 8 Международного съезда онкологов, проходившего в 1962 г. в Москве.

Инфекционный вирус человека вызывает опухоли! Это опрокидывало все старые представления. Аденовирусы тотчас приковали к себе внимание многих ученых. Да и не только они. Следовало выяснить, как обстоит дело с другими инфекционными вирусами. Сразу возникло опасение, что опухолеродность распространена в мире вирусов гораздо шире, чем казалось. Нужно только знать, когда и как ее можно выявить. А вдруг она присуща всем вирусам, но обнаруживается лишь при определенных условиях? Каковы эти условия? Что необходимо для

ее проявления? Так возникла большая проблема опухолеродности вирусов, которая включила не только теоретические, но и практические вопросы.

Как только Трентин сообщил результаты своих опытов с аденовирусом человека 12-го типа, начались проверочные исследования в других лабораториях. Данные Трентина полностью подтвердились. Выяснилось далее, что это не единственный тип аденовируса человека, способный вызывать опухоли. Некоторые типы аденовирусов оказались сильноопухолеродными для хомяков, другие — слабоопухолеродными. Были и такие, которые опухолей не вызывали.

Вирусы 12, 18 и 31-го типов вызывали опухоли быстро и в высоком проценте, причем не только у хомяков, но и у крыс, мышей, африканских грызунов мастомис, а также трансформировали культуры клеток хомяков, крыс, кроликов и человека. Аденовирусы 3, 7, 14, 16 и 21-го типов, напротив, поражали единичных животных (только хомяков), и опухоли появлялись через большой промежуток времени. Вот почему первоначально опухолеродные свойства этих аденовирусов остались незамеченными.

Полученные данные позволили разделить все аденовирусы человека на три группы: группы *A* — высокоопухолеродные (типы 12, 18, 31), группа *B* — слабоопухолеродные (типы 3, 7, 11, 14, 16 и 21) и группа *C* — неопухолеродные (типы 1, 2, 5 и 6). В последнюю группу включены все вирусы, опухолеродность которых в опытах на новорожденных хомяках не выявилась. Представители группы *C*, как потом выяснилось, трансформировали клетки крыс в культуре ткани и потому лишь условно могли быть названы неопухолеродными.

Но все это было установлено в опытах на животных. Не могут ли аденовирусы проявить свои коварные свойства в клетках естественного хозяина — человека? Специальные эпидемиологические исследования не подтвердили опасений ученых. Хотя аденовирус иногда выделяли из опухолей, не было доказательств, что именно он является первопричиной.

Ткань опухоли — хорошая среда для размножения многих вирусов, поэтому их обнаружение в опухоли — еще не доказательство его «виновности».

С какими же особенностями аденовирусов связана их разная опухолеродность?

Все аденовирусы сходны по структуре. Частицы их состоят из 252 белковых структурных единиц — капсомеров, расположенных вокруг ядра. Они образуют сложный многогранник с 20 гранями, называемый икосаэдром⁴⁷. В состав частицы входят два вида белков — капсидный (оболочечный) и внутренний, обеспечивающий устойчивое состояние ДНК вируса и ряд других функций.

Принципиальных различий в аминокислотном составе аденовирусов групп А, В и С нет, хотя они не полностью сходны друг с другом. В состав внутреннего белка всех аденовирусов — это является характерной их особенностью — входит аминокислота аргинин, необходимая для созревания вирусной частицы. Все аденовирусы имеют двухнитчатую линейную ДНК в отличие от кольцевой ДНК вируса полиомы и вируса ОВ40; они крупнее этих вирусов, молекулярный вес ДНК — 20 — 25 миллионов, а частиц около — 175 миллионов.

Содержание ДНК у разных типов аденовирусов колеблется от 11,6% до 13,7%; оно ниже всего у вирусов высокоопухолеродной группы А. В этой группе на 2—4 гена меньше, чем в других. По последовательности нуклеотидов ДНК аденовирусов человека внутри групп А, В и С весьма близка, но между группами имеются значительные различия. Часть наследственной информации — от 10 до 26% — все же одинакова, гомологична. Она представлена генами, кодирующими белок, общий для всех аденовирусов, так называемый *группоспецифический антиген*.

Участвуют ли эти общие гены в трансформации? Тщательные исследования показали, что в трансформированных клетках каждая группа вирусов образует присущие только ей информационные РНК. Одинаковых иРНК не обнаружили. Следовательно, трансформация не связана с входящими в состав аденовирусов общими генами.

Для характеристики ДНК важно процентное содержание двух азотистых оснований: гуанина и цитозина. В группе высокоопухолеродных аденовирусов человека, как показали опыты М. Грина и К. Фужинага, процентное содержание этих оснований оказалось наиболее низким и приближалось к содержанию их в ДНК нормальной клетки, в группе неопухолеродных аденовирусов оно было наиболее высоким. Однако нет прямой связи между содержанием в ДНК вируса гуанина и цитозина и его

⁴⁷ По-гречески «икос» — 20.



опухолеродностью. Впрочем, следует учесть, что в трансформированной клетке не все гены работают, информация переписывается лишь с части генома вируса, составляющей 4—20% (1—10 генов). Не исключено, что именно эта часть сходна с ДНК клетки.

Американский исследователь Р. Шлезингер считает, что при трансформирующем действии в молекуле ДНК вируса должны отсутствовать какие-то сегменты, богатые гуанином и цитозином, необходимые для поздних функций вируса. Они содержат информацию для образования белков вирусной оболочки, без которых не может произойти созревания вирусных частиц. Ученый подсчитал, что ДНК неопухолеродных аденовирусов содержит на 7000 нуклеотидов больше, чем высокоопухолеродных. Этого количества «добавочных» нуклеотидов достаточно, чтобы кодировать три белка. Их присутствие, возможно, и определяет размножение вируса в клетках хомяков и препятствует трансформирующему его действию.

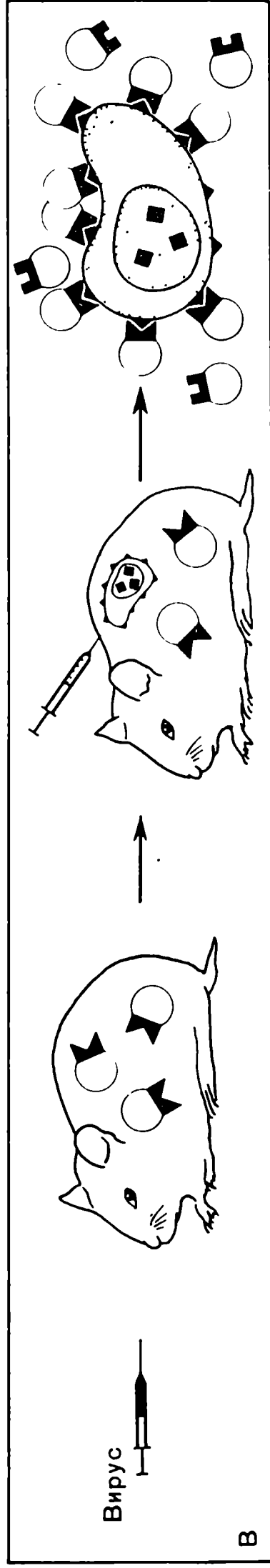
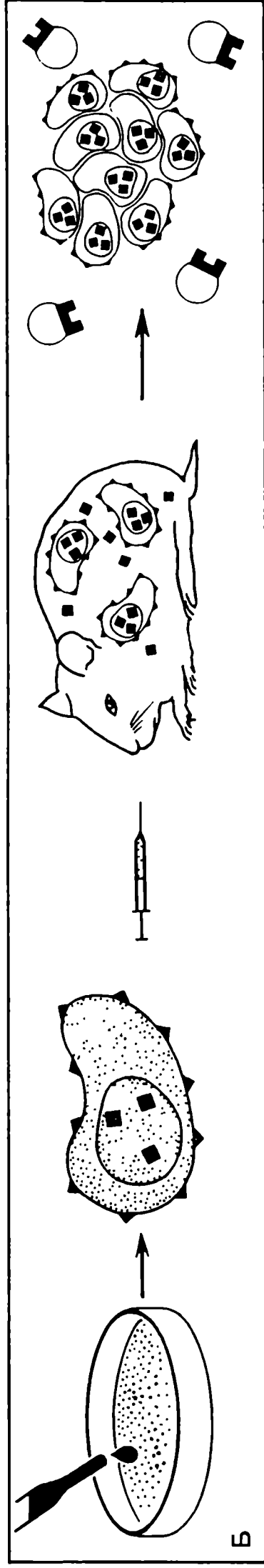
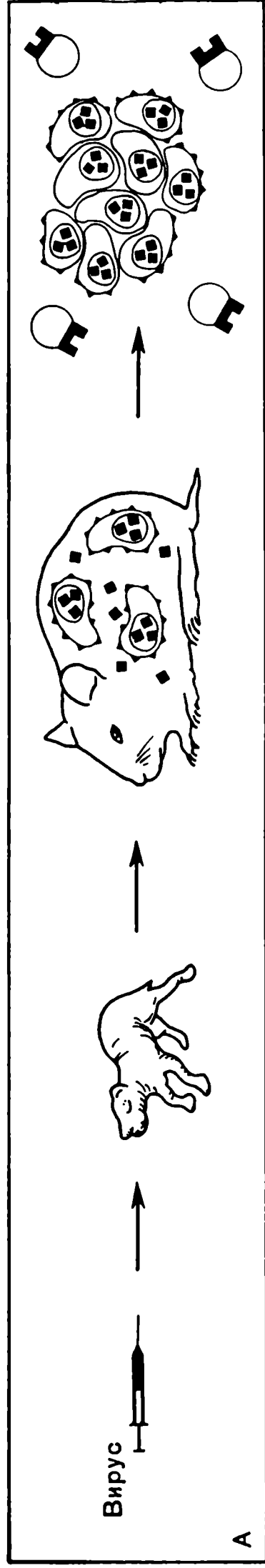
Логически развивая свою мысль, Шлезингер считает, что теоретически любой ДНК-содержащий вирус, размножающийся в ядре, попадая в клетку, где блокируются его поздние функции, может приобрести опухолеродность. Но при этом должны обеспечиваться условия для включения его наследственного вещества в геном клетки.

Инфекция аденовирусами может протекать, как мы указывали, в разных формах и приводить к разрушению клеток или их трансформации. Все аденовирусы — человека, обезьяны, крупного рогатого скота и птицы, среди которых также есть опухолеродные, — подобно вирусам полиомы и ОВ40, уже вскоре после инфекции способны стимулировать синтез клеточных белков и ДНК и вызывать образование Т-антигена.

В синтезе ДНК аденовируса участвуют, по-видимому, не только клеточные, но и вирусные ферменты. Инфекция протекает по-разному в зависимости от чувствительности клеток к вирусу. Если они допускают размножение вируса, то вслед за стимуляцией наступает задержка синтеза клеточных ДНК, РНК и белков. Обмен веществ в клетках нарушается, и они гибнут. В клетках, не допускающих размножения аденовирусов, инфекция как бы обрывается, поздние функции вируса подавляются. Переход в трансформированное состояние зависит от многих условий.

Считается, что в основе трансформации лежит процесс внедрения генома вируса в геном клетки, т. е. интеграция. Хотя к интеграции способны аденовирусы человека всех трех групп, число молекул их вирусных ДНК в геноме клетки значительно колеблется: от 22 до 85. В наследственный аппарат клетки, по-видимому, входит вся ДНК вируса, но функционирует только часть ранних генов. Вирусные гены приобретают преимущества перед клеточными в отношении транскрипции. В чем тут дело — еще не ясно. В трансформированной клетке происходит синтез белков, в том числе ядерного Т-антигена, различного для каждой из групп, и трансплантационного.

Каждая группа аденовирусов — *A*, *B* и *C* — образует специфическую иРНК. Эти РНК не дают гибридов между собой, так как не имеют общих гомологических участков. Однако трансплантационный антиген оказался общим для всех аденовирусов человека. Что же он собой представляет? Ведь каждый антиген образуется на рибосомах в соответствии с информацией, которую приносит информационная РНК, а, как уже говорилось, в клетках, трансформированных аденовирусами группы *A*, *B* и *C*, вирусные информационные РНК различны. Поскольку образующиеся трансплантационные антигены одинаковы, естественно, стали думать, что в их синтезе участвуют не



Антигены и антитела при опухолевом росте

А — опухоль у хомяка возникла в результате введения вируса новорожденному животному; **Б** — опухоль у хомяка развилась после введения взрослому животному трансформированных вирусом клеток. В обоих случаях в организме опухолевого животного есть антитела к внутреннему Т-антигену, освобождающемуся при разрушении некоторых клеток. **В** — опухоль у хомяка не развилась после введения вируса взрослому животному, хотя отдельные клетки трансформировались и в организм

ме появились антитела к их трансплантационному антигену. Введение тому же животному трансформированных этим же вирусом клеток не привело к росту опухоли, клетки рассосались под влиянием антител.

Т-антиген — черные квадраты; трансплантационный антиген — черные треугольники; антитела к Т-антигену — кружки на черной подставке с квадратной выемкой; антитела к трансплантационному антигену — кружки на черной подставке с треугольной выемкой

(по Ф. Рэнну)

вирусные, а клеточные гены. В противном случае каждая группа аденовирусов имела бы свой трансплантационный антиген.

Было высказано предположение, что здесь играет роль *эмбриональный ген*. В норме такие гены у взрослого не функционируют, но при трансформации репрессия с отдельных эмбриональных генов может быть снята. Каждый эмбриональный ген несет информацию для синтеза определенного эмбрионального белка, антигена, фермента.

Согласно высказанному взгляду, все аденовирусы активируют один и тот же эмбриональный ген, почему и образуется общий трансплантационный антиген. Мышиный вирус полиомы, обезьяний вирус ОВ40 и аденовирусы человека активируют при трансформации разные эмбриональные гены и соответственно вызывают образование различных трансплантационных антигенов. Таким образом, хотя трансплантационный антиген и кодируется клеточными генами, он несет на себе отпечаток специфичности трансформирующего вируса.

Обнаружение антител к разным эмбриональным белкам в скрытый период опухолевого процесса служило бы важным подтверждением изложенного взгляда. В настоящее время эмбриональные антигены найдены при злокачественных опухолях печени мышей и крыс, саркомах крыс, при эмбриональных опухолях яичек, опухолях печени, желудочно-кишечного тракта, легких и мозга у людей. У больных с опухолями желудочно-кишечного тракта наряду с эмбриональным антигеном выявлены и специфические антитела к нему. Однако эмбриональный антиген иногда удается обнаружить и у лиц, внешне здоровых.

Наличие эмбрионального антигена при злокачественных опухолях печени и яичка подтвердилось в эпидемиологическом опыте, проведенном в Африке, где случаи этих заболеваний особенно часты. Выяснилось также, что иммунизация хомяков облученной тканью плода человека защищает их от развития опухолей при введении аденовируса человека 3-го типа. Аналогичные данные получены и в отношении вируса ОВ40. Если взрослых хомяков-самцов иммунизировали тканью плода хомяка первых 12 дней развития (но не позднее!), то животным уже не удавалось привить клетки, трансформированные вирусом ОВ40. Такие же закономерности получены и на мышах-самцах, но на самках этот вид иммунизации, как правило, не удавался.



**ГАРРИ ИЗРАИЛЕВИЧ
АБЕЛЕВ**

Пока еще не все ясно в отношении природы трансплантационного антигена и роли эмбрионального белка при злокачественных опухолях.

Эти исследования представляются нам очень важными. На этом пути открываются подходы и для ранней диагностики, и для пассивной иммунизации против рака и особенно его метастазов. Начало им было положено в нашей стране. Выше уже говорилось, что Д. М. Левина и В. А. Артамонова обнаружили антигенные различия между опухолью печени и нормальной печеночной тканью, а Г. И. Абелев показал, что в составе специфического антигена находится эмбриональный белок. Подобный белок

выявили не только в опухолях у животных, но и у человека. Эти исследования успешно развиваются как у нас, так и за рубежом; они составляют особый раздел в онкологии.

Природа трансплантационного антигена, образование которого столь важно для перехода клетки из нормального в опухолевое состояние, продолжает изучаться учеными с разных позиций.

Закономерности опухолеродного действия аденовирусов прослежены при инфекции ими не только клеточных культур, но и животных.

В целом развитие опухолевого процесса представляется так: в начальной стадии инфекции опухолеродным вирусом в организме появляются единичные трансформированные клетки. Иммунная система реагирует выработкой антител к поверхностно расположенному трансплантационному антигену. Антитела препятствуют росту трансформированных клеток. Лишь с того момента, когда антиген «берет верх», кончается скрытый период формирования опухоли и начинается бурный ее рост. Комплексы антител с антигеном, блокируя иммунные клетки, в дальнейшем только способствуют развитию процесса.

Потенциальная способность аденовирусов трансформировать некоторые виды клеток явилась достаточным основанием для того, чтобы отказаться от аденовирусных вакцин. Пусть роль возбудителей аденовирусных инфекций как причины рака у человека не доказана, но такая возможность полностью не исключена.

После опытов Трентина стена между инфекционными и опухолеродными вирусами рухнула.

СУЩЕСТВУЕТ ЛИ ГЕН ОПУХОЛЕРОДНОСТИ?

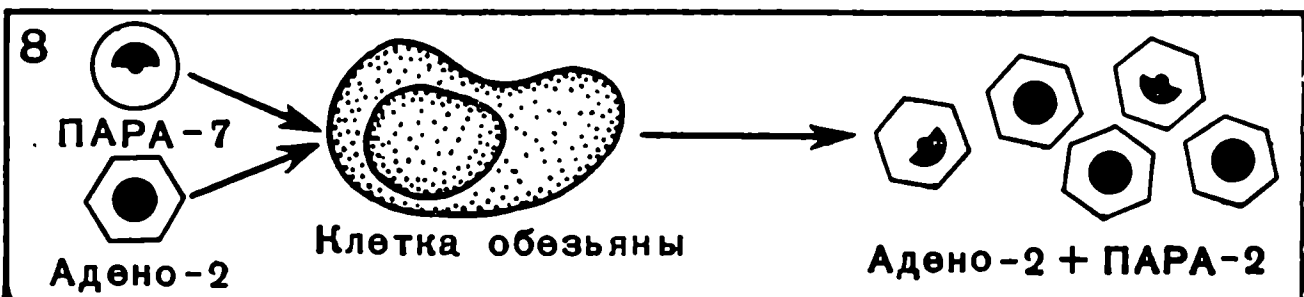
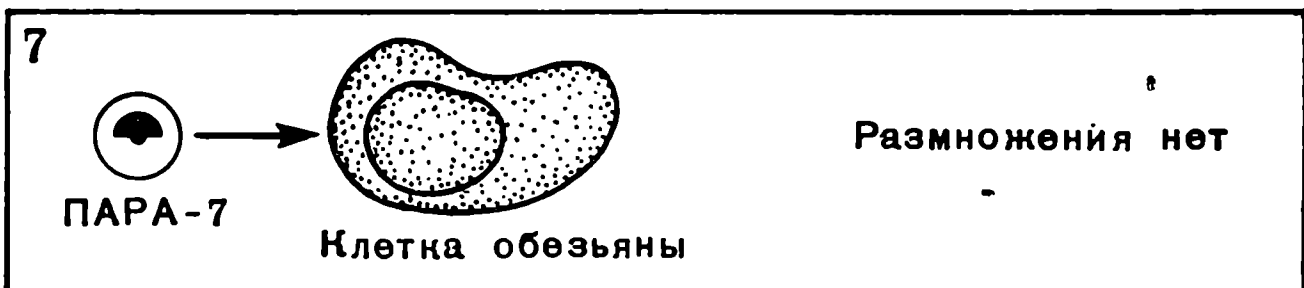
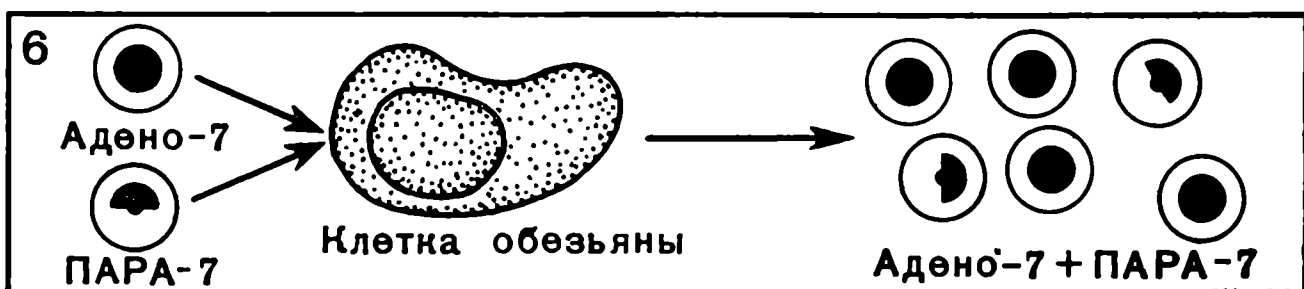
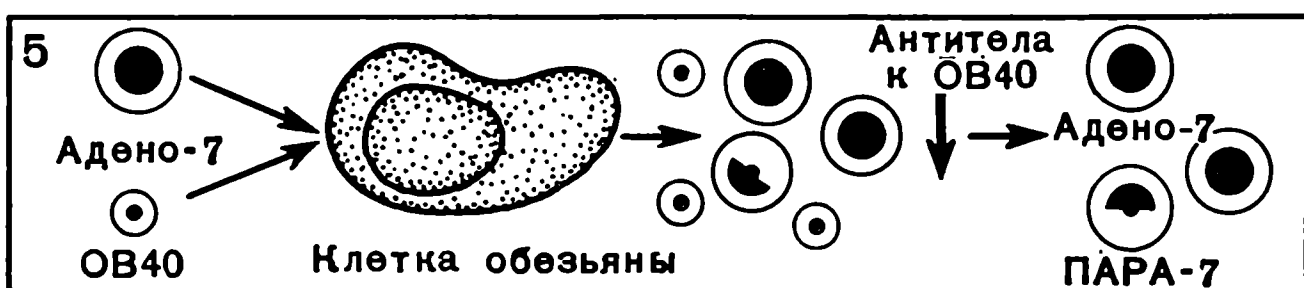
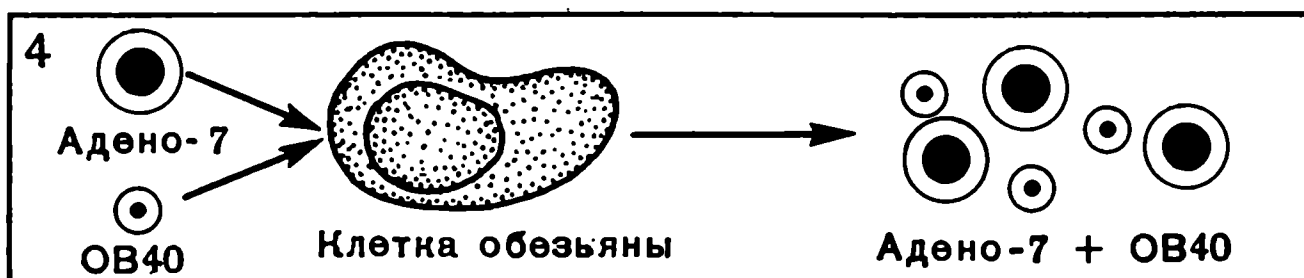
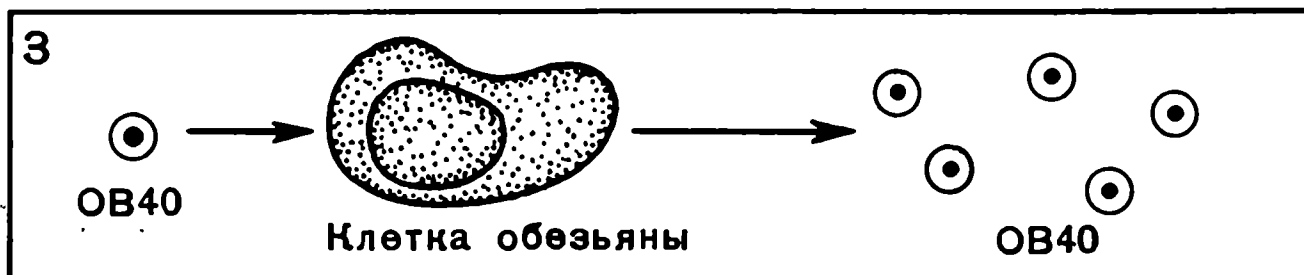
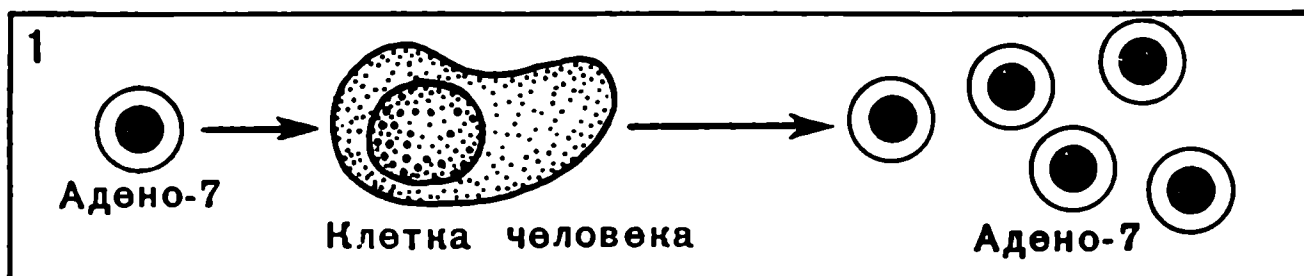
Наследственный аппарат вируса содержит ряд генов. Все ли они необходимы для превращения нормальной клетки в опухолевую? Всегда ли в трансформированной клетке находится полный геном вируса? Нет ли в его составе гена, ответственного за трансформацию? Все эти вопросы подвергли экспериментальному изучению.

Обнаружение в трансформированной клетке информационной РНК, ядерного Т-антигена, поверхностного трансплантационного антигена, белков и ферментов с вирусной специфичностью всегда указывает на присутствие наследственного вещества вируса. Однако чтобы оценить, в каком количестве оно представлено в клетке, нужны особые приемы.

Опухолеродные вирусы обычно не размножаются в трансформированных ими клетках. Но означает ли это, что в них содержатся не все вирусные гены?

Ответ на этот вопрос потребовал специальных опытов. Исходным положением было следующее: если в клетке нет полного вирусного генома, нельзя получить вирусное потомство. Поэтому, когда экспериментатор, оперируя тем или иным образом с трансформированной вирусом клеткой, вызывает образование инфекционных вирусных частиц, он доказывает этим, что в клетке содержится все наследственное вещество вируса целиком, а не какая-то его часть.

Один из способов выявления генома вируса в опухоловой клетке — слияние ее с чувствительной к нему клеткой. В трансформированной клетке может не хватать фактора (или факторов), необходимых для вирусного раз-



множения, или, напротив, присутствовать вещество, блокирующее поздние функции вируса и препятствующее образованию белков вирусной оболочки. Слияние опухолевой клетки с нормальной, допускающей размножение опухолеродного вируса, может снять блок с поздних генов и обеспечить таким образом условия для формирования частиц, если в клетке находился полный вирусный геном.

Опыты слияния действительно во многих случаях выявляют его при трансформации вирусом ОВ40, но это не удавалось с полиомными клетками и заставило предположить, что наследственное вещество вируса полиомы не представлено в них целиком. Такое же заключение сделали в отношении некоторых линий клеток, трансформированных вирусом ОВ40. Слияние их порознь с чувствительными клетками не приводило к образованию инфекционных вирусных частиц. Однако они появлялись, если в опыте использовали одновременно несколько линий опухолевых клеток. По-видимому, каждая из них имела неодинаковый дефект наследственного вещества вируса, а вместе они составляли полный геном, который начинал функционировать при слиянии с чувствительной клеткой. Такой вывод, казалось, логически вытекал из этих исследований.

Справедливость подобных умозаключений поставили под сомнение опыты по переносу в чувствительные нормальные клетки ДНК, выделенной из клеточных линий, трансформированных вирусом ОВ40 и полиомы. Новый метод оказался значительно более эффективным, чем метод слияния. Во всех случаях введение ДНК трансформированной клетки в чувствительную к вирусу клетку сопровождалось образованием потомства инфекционных вирусных частиц. Таким образом метод переноса ДНК об-

Результаты взаимодействия двух вирусов

Аденовирус человека 7-го типа может размножаться в клетке человека (1), но не обезьяны (2). Вирус ОВ40 размножается в клетке обезьяны (3) и «помогает» размножаться в ней аденовирусу-7 (4). Добавив иммунную сыворотку к вирусу ОВ40, можно удалить вирус, но при этом обнаруживаются частицы со сложным составом ДНК — (ПАРА-частицы) (5), которые также «помогают» аденовирусу-7 размножаться в обезьяньих клетках (6), сами же ПАРА-частицы в них не размножаются (7). В комбинации с аденовирусом человека 2-го типа они меняют оболочку и дают в клетке обезьяны вирусное потомство (по Ф. Рэппу)

наруживал полный вирусный геном и там, где он не открывался путем слияния и где предполагалось наличие неполного или дефектного наследственного материала вируса.

Сейчас принято считать, что наследственное вещество вируса представлено в трансформированной им клетке полностью или в большей своей части.

Но все ли вирусные гены необходимы для трансформации? Ответ на этот вопрос отрицателен. Подавление генов, ведающих поздними функциями вируса, не влияет на переход клетки в опухолевое состояние, и они, следовательно, не принимают тут участия. В эксперименте даже половинки ДНК обезьяньего опухолеродного аденовируса SA₇ вызывали опухоли. Выяснено, что в трансформирующем действии аденовирусов обезьян участвует лишь очень малая доля их наследственного вещества. Но какая? Составляет ли она несколько или только какой-то один ген?

Среди методов, используемых для выявления генов, связанных с определенной функцией, пожалуй, наиболее важные результаты получены путем изучения новых форм вирусов — *мутантов*⁴⁸; мутантная форма содержит ДНК, отличающуюся по какому-то гену и соответственно по генной функции.

Наиболее тщательно изучены мутанты вируса полиомы, чувствительные к температуре. Они размножались только при 30—31,5°; причем одни из них не могли синтезировать вирусную ДНК, другие — вызывать синтез клеточной ДНК, третьи — синтез вирусных структурных белков и т. д. Утрата способности к синтезу вирусных белков и вирусной ДНК не лишала мутанты трансформирующей активности. Однако, если подавлялся синтез некапсидного фермента, участвующего в процессе удвоения вирусной ДНК, которому приписывают роль во включении ее в хромосому клетки, мутант уже не мог вызвать превращения нормальных клеток в злокачественные, но сохранял способность поддерживать установившееся трансформированное состояние. Таким образом, можно думать, что две эти функции: трансформация и сохранение трансформированного состояния контролируются по меньшей мере двумя генами.

Стимуляция синтеза клеточной ДНК наблюдалась у всех описанных выше вирусных мутантов, но она лишь косвенно связана с их трансформирующей способностью. Между тем изменение свойств

⁴⁸ От латинского слова «мута» — менять, переменять, изменять.

поверхностной оболочки клетки при трансформации, обусловленное вирусными генами, является в этом процессе весьма существенным моментом.

Анализ мутантов вируса полиомы, отличающихся по спектру хозяев, показал, что гены, определяющие это свойство, также важны для трансформации.

Совпадающие результаты дали исследования мутантов вируса ОВ40 и аденовирусов. В итоге опытов с мутантами вирусов сложилось представление, что в составе опухолеродных вирусов есть сходные по функции гены, одни из которых необходимы, чтобы вызвать трансформацию, а другие — чтобы сохранить это состояние.

А нет ли какого-то общего «ракового» гена у ДНК-содержащих опухолеродных вирусов? В пользу этого предположения не получено никаких данных, и оно полностью отклоняется.

Недавно советский ученый А. Д. Альтштейн высказал гипотезу, согласно которой «раковые» гены у опухолеродных вирусов имеют клеточное происхождение и представляют собой не что иное, как нормальные клеточные гены, регулирующие деление клетки. В процессе эволюции эти гены стали неотъемлемой частью наследственного аппарата аденовирусов, вируса полиомы и ОВ40, в силу чего без них теперь невозможно размножение этих вирусов. Приведенные выше данные об отсутствии общего «ракового» гена у адено- и паповавирусов, поражающих один и тот же вид животного, например у аденовируса обезьян и обезьяньего вируса ОВ40, плохо согласуется с этим предположением. Деление клеток у животных регулируется определенными генами, и если бы эти гены приобретали функцию «раковых», включившись в состав вируса, они были бы общими по меньшей мере у двух опухолеродных вирусов одного и того же вида животного.

Другой вопрос, значение которого трудно переоценить: а не может ли клетка, которая уже приобрела под влиянием «ракового» гена вируса злокачественные свойства, вернуться к норме и дать здоровое потомство? Ответ на этот вопрос положителен: да, может. Такие клетки носят название *ревертантов* («возвращенцев»), а само явление возврата к нормальному состоянию, как уже говорилось, — реверсии. Ее связывают с утратой опухолевыми клетками некоторых хромосом, а вместе с ними и вирусных генов, поддерживающих трансформированное состоя-

ние. В клетках выключается при этом синтез Т-антигена и трансплантационного антигена, они вновь приобретают способность к контактной задержке и влиянию механизмов, регулирующих в норме их рост и деление. Они освобождаются от навязанного им «нового порядка».

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСОВ

Мир вирусов разнообразен. Опухолеродный вирус, проникнув в клетку, может оказаться в обществе вируса другого вида. Что произойдет при встрече? Не повлияет ли это на ход инфекции?

Возьмем для примера аденовирус человека. Обычно в клетках обезьян он не размножается, но, попав в культуру, где имеются свои собственные обезьяньи аденовирусы либо вирус ОВ40, он начинает давать потомство инфекционных частиц.

Почему же аденовирусные частицы начинают созревать в клетках, до этого не допускавших их размножения? Оказывается, что второй вирус, находящийся в клеточной культуре, снабжает аденовирус человека белками, которых недостает для образования его оболочки. Наследственный аппарат вирусов в этот процесс не включается.

Два вируса могут вести себя по-разному порознь и вместе и по другой причине. В начале 60-х годов в США при разработке вакцины против аденовируса человека 7-го типа, являющегося возбудителем аденовирусных вспышек среди призывников, неожиданно был получен вирус, который размножался в клетках обезьян. Возникло предположение, что в этом повинен вирус ОВ40, загрязнивший вакцину. Чтобы получить чистый препарат, использовали антисыворотку против ОВ40. После такой обработки клеточные культуры уже не содержали этого вируса, однако размножение аденовируса в клетках продолжалось.

Это непонятное явление потребовало специальных исследований. Они показали, что в результате взаимодействия аденовируса 7-го типа с вирусом ОВ40 образовались особые вирусы, которые имели размеры, структуру и белки оболочки аденовируса, но их наследственный аппарат

был представлен двумя видами ДНК: аденовируса и вируса ОВ40. Это были настоящие гибридные частицы, которые получили название ПАРА (PARA — первые буквы английских слов: particles aiding replication of adenovirus, т. е. — частицы, способствующие размножению аденовируса).

ДНК обоих вирусов в ПАРА-частицах представлены неполностью, поэтому они не могут сами производить белки оболочки и размножаться. Если же в клеточной культуре наряду с ПАРА находятся аденовирусные частицы, то и те и другие начинают давать потомство.

Подобные взаимоотношения могут возникнуть между разными вирусами при гибридизации. Но есть и другая форма отношений — *транскансидация*, т. е. смена белковой оболочки. Те же ПАРА-частицы, комбинируясь в культуре с другими аденовирусами, меняют свою оболочку. Например, гибрид аденовируса 7-го типа и ОВ40 в присутствии аденовируса 2-го типа дает новый вид ПАРА-частиц, наследственный аппарат которых остается без изменения, а оболочка (капсид) строится из белка аденовируса 2-го типа. При смене оболочки опухолеродность ПАРА-вируса отнюдь не снижается, даже если его оболочка состоит из белков аденовируса человека 2-го типа, который не способен сам вызывать опухоль.

Теоретически опухолеродные вирусы могут встретиться в клетке с разными инфекционными вирусами и даже дать гибриды с ними. Не могут ли в этом случае скрытые опухолеродные аденовирусы активироваться и начать трансформировать клетки? Вопрос этот еще не изучен, хотя весьма важно узнать, например, не станут ли в результате такой встречи «безобидные» аденовирусы опухолеродными для человека.

Часто ли вообще происходит гибридизация аденовирусов в естественных условиях?

На модели аденовирусов человека ответа на этот вопрос получить не удалось, так как в клетках человека всегда находится какое-то количество аденовируса. В его присутствии ПАРА-частицы размножаются, и клетки не трансформируются, а погибают.

В эксперименте были получены многочисленные гибриды обезьяньего вируса ОВ40 со слабоопухолеродными и неопухолеродными аденовирусами человека. Каждый из таких гибридов отличался по количеству представленной

в его наследственном аппарате ДНК гибридных партнеров — аденовируса и вируса ОВ40. Большинство из них оказались дефектными: без помощи негибридных вирусов они не могли давать потомства, но способны были трансформировать клетки.

Один из гибридов ОВ40 с аденовирусом 2-го типа содержал в отличие от других достаточное количество аденовирусной ДНК, обеспечившее ему самостоятельное размножение. Его удалось выделить в чистом виде и тщательно изучить. ДНК аденовируса 2-го типа была прочно связана с ДНК ОВ40. Этот гибрид не обладал опухолеродной способностью. ДНК вируса ОВ40 составляла в нем только 1% всей ДНК — количество, достаточное, чтобы кодировать лишь один-два белка.

Другой гибрид — ПАРА-вирус — адено 7 — ОВ40 оказался, наоборот, чрезвычайно опухолеродным; в клетках хомяка он был в десять тысяч раз активнее, чем каждый из двух исходных вирусов в отдельности. Высокая опухолеродность гибридных форм вирусов, несомненно, связана с их дефектностью. Изучение гибридных вирусов — один из путей к выявлению генов, обуславливающих опухолеродность.

Итак, одновременное действие двух вирусов может привести к весьма неожиданным результатам. С этим необходимо считаться, так как в организме подобные «встречи», вероятно, являются скорее правилом, чем исключением.

А часто ли случайные встречи приносят счастье?

ВИРУС ГЕРПЕСА — ЭБВ

Вирусы ОВ40, полиомы, аденовирусы, о которых мы рассказывали в предыдущих главах, в естественных условиях обычно не вызывают опухолей у человека и животных. Нет данных, которые бы подтверждали, что они возбудители хотя бы одной злокачественной опухоли, возникшей вне эксперимента, самопроизвольно.

Другое дело вирусы бородавок — доброкачественных кожных опухолей, встречающихся у человека, кролика, со-

баки, коровы и других животных. У этой группы вирусов та же структура, что и у вирусов полиомы и ОВ40, но размеры крупнее, молекулярный вес их ДНК в 1,5—2 раза больше (он составляет примерно 5×10^6).

К возбудителям естественно возникающих доброкачественных опухолей относится и представитель из группы ДНК-содержащих оспенных вирусов — вирус Яба. Он был выделен в 1957 г. в Яба (Нигерия), где возникла «эпидемия» кожных опухолей в колонии азиатских обезьян, импортированных незадолго до этого в Западную Африку. Сначала опухоль была обнаружена на морде одной обезьяны, а вскоре — еще у 20 животных, находившихся в открытом загоне. Местные западноафриканские обезьяны в той же колонии оставались здоровыми. Опухоли быстро разрастались, достигали нескольких сантиметров в диаметре, а затем начинали постепенно рассасываться.

Под микроскопом в клетках опухоли обнаруживались крупные тельца — включения, очень напоминавшие вирусные.

Образцы опухолей послали в замороженном состоянии в Национальный институт медицинских исследований в Лондоне. Там, в лаборатории Кристофера Эндрюса, их тщательно исследовали. Оказалось, что опухоли обезьян можно привить фильтрованным бесклеточным материалом другим обезьянам, а от них — третьим и т. д. При внутривенном введении фильтрата все тело обезьяны покрывалось мелкими пятнами. В последующие дни число поражений уменьшалось, но оставшиеся увеличивались в размерах, образуя доброкачественные опухолевые узелки под кожей, а иногда и в легких, сердце, мышцах.

В опухолевых клетках всегда обнаруживались включения двух типов: вначале мелкие, представлявшие собой агрегаты вирусной ДНК, позднее — более крупные, содержавшие зрелые вирусные частицы и продукты клеточного распада.

Частицы имели форму кирпичиков размером 200×280 нанометров. По внутренней структуре они походили на вирус оспы.

Но во многих отношениях вновь выделенный вирус отличался от других представителей оспенной группы. У обезьян, иммунизированных вирусом оспы, вновь найденный вирус Яба вызывал типичные доброкачественные опухоли. При работе с ним один из сотрудников слу-

чайно проколол палец. На месте укола появилось покраснение. Затем оно прошло, но спустя четыре месяца он прощупал маленький узелок на пальце. Постепенно увеличиваясь, узелок достиг 2 см в диаметре. Опухоль удалили. По своему строению она не отличалась от опухолей обезьян. В последующем никаких проявлений заболевания не было отмечено. Но этот случай указывал на способность вируса Яба поражать человека.

Позднее в Америке на добровольцах с неизлечимым раком провели специальный опыт, чтобы установить, размножается ли вирус Яба в организме человека. Через 5—6 дней после введения вируса у всех появились узелки, которые, медленно разрастаясь, достигли примерно 2 см в диаметре, а затем начали быстро рассасываться. Опухолевые узелки содержали вирус Яба. Фильтраты их вызвали новые опухоли у обезьян и добровольцев, при этом и у тех и у других в крови появились антитела к вирусу. Так удалось доказать, что обезьяний опухолеродный вирус способен размножаться и вызывать рост доброкачественной опухоли у человека.

Но только ли доброкачественные опухоли возникают при инфекции вирусом Яба?

Чтобы выяснить это, после введения вируса Яба обезьянам ежедневно смазывали кожу химическими канцерогенами. Однако у подопытных животных опухоли рассасывались даже раньше, чем у контрольных, которым вводили только вирус. Ученые еще раз убедились, что в естественных условиях ДНК-содержащие вирусы не вызывают злокачественного роста.

Хотя ДНК-содержащие вирусы (адено-, папова- и оспенные) включают агенты с опухолеродной активностью, можно ли считать их причиной злокачественного роста в природных условиях? Все, казалось, говорило против. Но совершенно неожиданно этот вопрос снова привлек внимание научного мира.

Случилось это так.

Английский хирург Денис Бэркит, работавший в течение многих лет в Уганде, в Африке, собрал большой материал о весьма распространенных опухолях у детей и подростков и описал их в своей статье, появившейся в 1958 г. в английском хирургическом журнале. Опухоли поражали челюсть, но нередко захватывали и глазную орбиту, совершенно обезображивая лицо. Они быстро разви-

вались, размеры их за два дня увеличивались вдвое. Иногда наблюдалось временное обратное развитие. Но в конце концов спустя 6—12 недель ребенок погибал⁴⁹. Болезнь поражала детей от 2 до 14 лет. Но чаще всего — 5-летних. После статьи Бэркита за опухоллями, которые состояли из лимфоидных клеток, утвердилось название «лимфома Бэркита».



ДЕНИС БЭРКИТ

За 8 лет наблюдений Бэркиту удалось зафиксировать огромное число — более 200 однотипных заболеваний! Это заставило сильно призадуматься. Поскольку симптомы болезни очень характерны, Бэркит решил выяснить зону ее распространения. Он разработал специальные опросные листы, сопровождал их фотографиями типичных опухолей и разослал в больницы и отдельным врачам, практиковавшим в Африке. Все это Бэркит делал на свой страх и риск. Приступая к исследованиям, он получил субсидию всего в 15 фунтов стерлингов, а через два года — еще одну — в 150 фунтов, которую израсходовал на покупку поддержанного автомобиля. Вместе с двумя помощниками он посетил на этом автомобиле более 50 больниц, чтобы собрать нужные сведения. В результате зона распространения заболевания была установлена. Оказалось, что она широким поясом охватывает Экваториальную Африку, от Дакара на западе — до восточного берега. Климат области распространения болезни был умеренным с большим количеством осадков.

Внутри «лимфомного пояса» (полосы распространения заболевания) на возвышенностях с более высокой температурой и меньшей влажностью дети не болели. Связав

⁴⁹ Сейчас имеются лекарства, которые полностью излечивают детей.

распространение заболевания с климатическими условиями, Бэркит предположил, что оно передается москитами.

Поскольку москиты часто являются переносчиками инфекционных агентов, естественно, стали искать возбудителя заболевания. Температурные условия зоны распространения лимфомы весьма подходили для вируса (при очень высоких температурах вирусы в москитах обычно не развиваются). Вскоре несколько групп исследователей сообщили о выделении из культуры клеток лимфомы Бэркита трех видов микроорганизмов — вируса *герпеса*⁵⁰, *микоплазмы*⁵¹ и *реовируса*⁵². Эти микроорганизмы широко распространены у людей, поэтому следовало разобраться, действительно ли они вызывают заболевание или всего-навсего сопутствуют ему. В опухоли, как известно, часто поселяются разного рода микробы и вирусы, находя там хорошие условия для размножения.

В исследования лимфомы Бэркита включилось много ученых, в том числе и советских. Постепенно накопились данные, существенно пополнившие прежние эпидемиологические наблюдения. Лимфома Бэркита, как выяснилось, встречается и вне «лимфомного пояса», в других частях Африки, с иными климатическими условиями, исключая роль гипотетического переносчика. Более того, заболевания, аналогичные лимфоме Бэркита, описаны в Новой Гвинее, США, Канаде. Однако только в «лимфомном поясе» Африки и в Новой Гвинее, сходных по климату, они многочисленны, в других же странах регистрируются лишь единичные случаи.

Итак, кто же возбудитель лимфомы Бэркита?

Сейчас, по прошествии многих лет, мы не будем останавливаться на всех перипетиях этих любопытных исследований. Из трех «подозреваемых» агентов остался

⁵⁰ Слово «герпес» произошло от греческого «герпейн» — ползти («герпетон» — змея). Гиппократ назвал герпесом как бы ползущие, изъязвляющиеся кожные поражения. Это название получил вирус, выделенный в 1924 г. от больного герпесом.

⁵¹ Микоплазма — особый вид очень мелких фильтрующихся микроорганизмов, отличных от бактерий, риккетсий и вирусов. Они содержат два вида нуклеиновых кислот ДНК и РНК и представляют собой клетки.

⁵² Реовирус, или РЕО, — респираторно-кишечный сиротский вирус. «Сиротскими» принято называть все вирусы, действие которых не установлено, а кишечно-респираторными — населяющие кишечник и дыхательные пути.

только один кандидат в возбудители — вирус из группы герпеса. В группу герпеса входит широко распространенный у человека возбудитель «лихорадки», нередко появляющейся на губах, у носа или глаза при простуде в виде наполненных жидкостью пузырьков.

Новый агент отличался по антигенным свойствам от всех до того известных герпетических вирусов. По имени выделивших его английских исследователей Мишеля Эпштейна и Эвелины Барр он был назван ЭБ, вирусом или *ЭБВ*. Этот вирус очень тесно связан с клетками, поэтому выделить его из лимфомы не удается. Но клетки содержат типичные для всех вирусов этой группы тельца-включения. Если в культуру нормальных лейкоцитов человека внести клетки лимфомы Бэркита, то в ней появляется вирус. Видимо, он переходит из опухолевых клеток в нормальные.



МИШЕЛЬ АНТОНИ ЭПШТЕЙН

Первый вопрос, который встал перед учеными: содержится ли ЭБВ у всех больных лимфомой Бэркита. В результате поисков вируса в культурах лимфомных клеток обнаружилось, что наряду с линиями, содержащими ЭБВ, есть и линии без вируса. Вместе с тем ЭБВ удалось найти у некоторых больных лейкозом и раком носоглотки. В сыворотке крови при лимфоме Бэркита и раке носоглотки регулярно выявляли антитела к антигену из клеток лимфомы.

Но самым удивительным оказалось наблюдение, сделанное американскими учеными Гертрудой и Вернером Хенл. Изучая антитела к ЭБВ, они использовали в качестве контроля сыворотки крови сотрудников лаборатории. Одна из сотрудниц вскоре заболела *инфекционным мононуклеозом*. При этом заболевании разрастается лимфоидная ткань, увеличиваются лимфатические узлы и кровь наводняется одноядерными незрелыми кровяными клетками. Те-

чение болезни, как правило, благоприятно. Через несколько недель формула крови возвращается к норме. На шестой день заболевания у сотрудницы появились антитела к ЭБВ, которых не было до болезни, а лейкоциты приобрели способность длительно расти в культуре ткани, подобно клеткам лимфомы Бэркита. Все это указывало на какую-то связь между инфекционным мононуклеозом и действием вируса. Но не было ли это простой случайностью?

Тотчас исследовали сыворотки 34 других больных инфекционным мононуклеозом. У всех в крови содержались антитела к ЭБВ, а лейкоциты в раннюю стадию болезни приобретали способность к длительному росту в культуре, подобно клеткам лимфомы. Эти результаты подтвердились во многих лабораториях.

Инфекция вирусом ЭБВ, проходящая незамеченной в раннем детском возрасте, оставляет антитела и иммунитет к заболеванию. Мононуклеоз развивается почти, как правило, только у тех, кто не инфицировался в детстве. Описаны отдельные эпидемические вспышки заболевания. Считается, что вирус часто передается при поцелуях (в слюне находится очень много вируса). По-видимому, такой путь инфицирования благоприятен для развития мононуклеоза. Пациенты, не имевшие до заболевания антител к ЭБВ, неизменно приобретали их после болезни, причем на очень долгое время. Так, антитела к ЭБВ в большом количестве были обнаружены спустя 37 лет после перенесенного заболевания у того самого человека, которому впервые в истории медицины поставили диагноз инфекционного мононуклеоза!

Роль ЭБВ в возникновении инфекционного мононуклеоза подтвердил анализ историй болезни. Многим до заболевания делали переливание крови. В организм попадала инфекция, так как кровь не всегда контролировали в достаточной степени.

В эксперименте введение ЭБВ гиббонам вызвало у двух из трех обезьян воспалительный процесс в миндалинах, по-видимому, тоже связанный с вирусом.

Чтобы окончательно убедиться, что ЭБВ вызывает инфекционный мононуклеоз, в Америке ввели его нескольким добровольцам, и у них развились типичные симптомы болезни. Так, цепь доказательств оказалась замкнутой.

При инфекционном моновульклезе, как мы уже говорили, происходит доброкачественное временное разрастание лимфоидных клеток. Стимуляция лимфоидной ткани — специфическая особенность ЭВВ. Но, возможно, этот же вирус при определенных условиях вызывает не преходящие, а глубокие, необратимые изменения клеток, их опухолевую трансформацию и, как следствие, лимфому? Такая мысль не кажется абсурдной.

Действительно, не является ли ЭВВ виновником лимфомы Бэркита?

Совсем недавно исследователи обнаружили, что вирус, выделенный непосредственно из носоглоточных смывов больных инфекционным моновульклезом, трансформирует в культуре ткани нормальные лейкоциты человека. Если учесть, что этот вирус постоянно выявляется в клетках больных лимфомой Бэркита и что все они имеют большое количество антител к нему, то роль вируса ЭВВ как причины возникновения этого заболевания становится более чем вероятной.

И все же ни одно из доказательств не может быть принято безоговорочно. Хотя у всех больных лимфомой Бэркита есть антитела к ЭВВ, они обнаруживаются также и у здоровых людей в разных странах мира, пусть реже и в меньших количествах. Наличие антител — показатель инфекции. Следовательно, ЭВВ распространен среди людей весьма широко. Подобное широкое распространение при относительно редких случаях заболевания характерно для многих опухолевых вирусов, которые в общем-то довольно «мирные» и «спокойные» сожители. Как правило, они проявляют свою болезнетворность лишь при совпадении целого ряда обстоятельств, создающих особые условия в организме.

По данным Клейна, в Африке, в местности, где случаев заболеваний лимфомой много, антитела к ЭВВ имеет примерно половина населения. Отмечено, что распределение антител колеблется в зависимости от возраста. Их часто обнаруживают у детей до двух лет. Вероятно, в этот период в организме сохраняются антитела, полученные от матери. Позднее количество антител у детей снижается, но с возрастом снова повышается. Такое распределение антител указывает на постепенное «проэпидемичивание» населения, приобретение иммунитета к вирусу.

Роль ЭБВ косвенно подтверждается тем фактом, что среди лиц, приезжающих в «лимфомный пояс» и не имеющих антител к ЭБВ, лимфома наблюдается не только у детей, но и в старшем возрасте. Следовательно, какая-то связь между ЭБВ и лимфомой существует. Но какая?

Вирус ЭБВ распространен повсеместно, а случаи лимфомы единичны, за исключением двух точек на Земле — лимфомного пояса в Африке и Новой Гвинее. С чем это связано?

Можно думать, что включаются дополнительные факторы, благоприятствующие злокачественному течению болезни. В самом деле, в этих районах широко распространена тропическая малярия, поражающая кроветворную систему организма и создающая особую почву для подавления иммунитета. Не исключено, что ЭБВ изменяется в организме гипотетического насекомого-переносчика, обитающего в этих местах, что именно при этих условиях накапливаются дефектные формы вируса с повышенной активностью, которые насекомое вводит непосредственно в ток крови. Все эти или какие-то иные предполагаемые возможности могут обусловить развитие лимфомы Бэркита в Африке и Новой Гвинее.

Рассмотрим, что показывают эксперименты. Методом ДНК — РНК-гибридизации выяснено, что в клетках лимфомы, не образующих частиц инфекционного вируса, находится вирусная ДНК. На клетку приходится примерно до 45—55 копий генома ЭБВ. Указывается, что молекулы вирусной ДНК распределены в нескольких хромосомах.

При инфекции культуры клеток человека бесклеточным материалом из лимфомы Бэркита поражение захватывает несколько групп хромосом, но особенно хромосомы 10-й пары. Вскоре после введения ЭБВ в культуру лейкоцитов или эмбриональных человеческих клеток начинается синтез клеточной ДНК, образуется новый поверхностно расположенный антиген и появляются все внешние признаки трансформации. Приобретают ли клетки опухолевые свойства?

Установить это можно только путем прививки естественному хозяину. Само собой разумеется, что с человеческими клетками, трансформированными в культуре вирусом ЭБВ, такой опыт исключается.

Однако совсем недавно ученые нашли, что ЭБВ трансформирует лейкоциты не только человека, но и обезьяны.

Интересно, что в трансформированных обезьяньих клетках удастся обнаружить и вирусный антиген и инфекционный вирус. Избирательное место продукции вируса — гигантские многоядерные клетки. Эти новейшие данные дают возможность проверить, могут ли трансформированные вирусом клетки вызывать рост опухоли в организме животного. Так или иначе, способность ЭБВ к трансформации клеток человека — важный аргумент в пользу его причинной роли при лимфоме Бэркита.

Итак, хотя есть основания думать, что ЭБВ вызывает лимфому Бэркита, немало еще надо сделать, чтобы этот взгляд стал общепризнанным.

После исследований лимфомы Бэркита даже самый безобидный представитель из группы вирусов герпеса оказался под подозрением: может быть и он волк в овечьей шкуре.

Если среди родственников есть волк, к кому причислить семейство: к овцам или волкам?

ЕЩЕ О ВИРУСЕ ГЕРПЕСА

Наш рассказ о роли вирусов герпеса при опухолях еще не закончен. Есть ряд других опухолевых болезней, по-видимому, вызываемых ими. В первую очередь — это рак носоглотки.

Заболевание распространено на юге Китая и наиболее чувствительны к нему жители, ведущие свое происхождение из южных провинций. Северные китайцы заболевают реже, у японцев рак носоглотки — редкость. Видимо, географические условия не играют никакой роли. Так, на Тайване рака носоглотки в 100 раз больше, чем на острове Окинава, хотя они очень сходны по географическим условиям. Среди заболевших этой формой рака — подавляющее большинство китайцы. Их высокая чувствительность именно к раку носоглотки сохраняется и при перемене места жительства, но при смешанных браках снижается в следующих поколениях. Большая литература, накопившаяся в настоящее время о распространении рака носоглотки в разных частях света, среди разных этнических групп, с убедительностью указывает на значение наследственных факторов.

Влияние генов хозяина на чувствительность к опухолеродному вирусу — явление весьма общее. Для некоторых вирусов точно установлено, сколько и какие гены клетки хозяина контролируют активность их наследственного аппарата. На этом фоне данные о связи рака носоглотки у человека с вирусом ЭБВ весьма примечательны.

По данным супругов Хенл, у всех больных раком носоглотки в крови содержится большое количество антител к ЭБВ. Для других типов злокачественных опухолей это не характерно. В сыворотке крови более 200 африканцев, больных раком или саркомой, находили значительно меньше антител к ЭБВ, чем при лимфоме Бэркита и носоглоточном раке. Таким образом, эти два заболевания в отношении связи с ЭБВ стоят особняком, отличаясь от других опухолей человека.

В клетках рака носоглотки при культивировании обнаруживаются вирусные частицы, а на клеточных оболочках — антиген, носящий отпечаток специфичности ЭБВ. Опыты гибридизации нуклеиновых кислот указывают на функционирование при этом заболевании наследственного вещества вируса из группы герпеса. Все это еще раз подтверждает, что рак носоглотки связан с вирусом ЭБВ.

Накапливаются данные о роли герпетического вируса при раке шейки матки у женщин. В крови таких больных регулярно обнаруживаются антитела к вирусу герпеса 2-го типа. Часто удается обнаружить и сам вирус. У женщин с воспалительными процессами, вызванными вирусом герпеса 2-го типа, рак шейки матки встречается гораздо чаще, чем у остальных. Есть народности, у которых этот вид рака чрезвычайно редок. Возможно, в развитии заболевания играют роль и наследственные особенности.

Очень важные данные получили недавно американские ученые Фред Рэпп и Рональд Даф: вирус герпеса 2-го типа, инактивированный ультрафиолетовыми лучами и утративший способность размножаться, трансформирует в эксперименте клетки хозяина. Введение этих клеток новорожденным сирийским хомякам вызывает подкожные саркомы, нередко дающие метастазы в легкое. В крови больных животных обнаруживаются антитела к вирусу герпеса 2-го типа, причём их количество по мере развития опухоли возрастает. В опухолевых клетках находится вирусная информационная РНК, но вирусный

антиген есть только в 1—5% клеток. Электронный микроскоп также открывает вирусные частицы лишь в немногих клетках. По-видимому, наследственный аппарат вируса в большинстве случаев подавлен, репрессирован. Сопоставление всех этих данных о вирусе герпеса, естественно, настораживает и побуждает к дальнейшим исследованиям.

Недавно в злокачественных клетках из лимфатических узлов больных лимфогрануломатозом⁵³ людей при культивировании их вне организма обнаружили два вируса: один — РНК- и другой — ДНК-содержащий. Последний относился к группе вирусов герпеса и был не отличим от ЭБВ. Взаимоотношения обоих вирусов между собой и связь их с заболеванием пока не установлены.



ФРЕД РЭПП

Вопрос о роли вируса герпеса в развитии опухолей человека нуждается в дальнейшей разработке. Когда старый знакомый выступает в новом свете, не так-то легко отрешиться от прежних представлений о нем.

* * *

Еще одно обстоятельство подкрепляет подозрение, павшее на ЭБВ. В группе вирусов герпеса, к которой он относится, обнаружены и другие представители, вызывающие, по всей видимости, развитие опухолей у животных. В первую очередь следует назвать возбудителя рака почки лягушки. Роль вируса в возникновении этой опухоли впервые показал американский ученый Б. Люке в 1934 г. Но сам вирус удалось выделить недавно М. Майзлу, И. Топлину и Дж. Айзексу. Многократные попытки обнаружить его в опухолях лягушек, содержавшихся в ла-

⁵³ Одна из форм опухолевого поражения лимфоидной ткани.

боратории, терпели неудачу до тех пор, пока не выяснилось влияние на вирус температуры окружающей среды.

В природных условиях вирус регулярно выявляется зимой, но исчезает летом. В лаборатории, при температуре 15°C и выше, вирусных частиц в организме лягушек нет. Однако стоит снизить температуру до 4° , как они снова появляются. Значит, низкая температура способствует размножению вируса. Он накапливается в организме в большом количестве и даже выделяется с мочой во внешнюю среду. В зараженном водоеме инфекция переходит на головастиков.

Вирус, выделенный из пораженной раком почки лягушки, сходен с вирусами герпеса по размеру и структуре частиц, характеру внутриклеточных включений и антигенов. Если взять опухоль лягушки, содержащую вирусные частицы, разрушить клетки и ввести зародышам лягушки, то у них разовьется рак почки. То же самое получается при введении очищенных вирусных препаратов. Правда, полной очистки добиться не удастся, и поэтому нельзя исключить роль сопутствующего агента. А в организме лягушек содержится много других вирусов, среди которых могут оказаться и опухолеродные.

Это соображение потребовало дополнительных доказательств роли вируса герпеса как причины рака почки лягушки. Их получили в биохимических опытах: РНК — ДНК-гибридизация подтвердила наличие в опухолях лягушек ДНК-содержащего вируса герпеса. Поиски восприимчивой к вирусу системы, позволяющей выделить вирус в чистом виде, продолжаются.

Недавно герпесоподобный вирус был описан при лимфосаркоме африканской жабы ксенопус⁵⁴. Опухоль ксенопуса передается фильтратом. В естественных условиях заражение, по-видимому, происходит через воду. Не исключено, что ксенопус является резервуаром опухолеродного вируса герпеса в Африке.

С вирусом из группы герпеса связано также опухолевое заболевание кур — болезнь Марека, или птичий паралич. Эта болезнь приносит колоссальные убытки, так как вызывает гибель значительной части птиц в хозяйствах. Она

⁵⁴ Ксенопус — *Xenopus laevis* — порода жаб, у которой отсутствует язык, на верхней челюсти имеются зубы, на задних лапах — когти, по бокам головы — щупальцевидные выросты.

протекает в нескольких формах, сопровождающихся параличами, поражением глаз, развитием лимфоидных опухолей. Во всех случаях в основе процесса лежит разрастание лимфоидной ткани.

Возбудитель болезни Марека выделяют из крови. Но особенно много его в мешочках, из которых идет рост пера. Эти мешочки подобны волосяным и расположены в коже довольно поверхностно. Вирус, накапливаясь в мешочках в значительном количестве, при их разрушении попадает вместе с



ПИТЕР БИГГС

клеточным содержимым во внешнюю среду. Он устойчив и долго сохраняется в пыли. Птицы инфицируются вирусом в раннем возрасте, но заболевают обычно немногие, благодаря передаче иммунитета от матери потомству и наследственной устойчивости. Если в хозяйство поступают восприимчивые птицы, начинается вспышка, сопровождающаяся массовым падежом.

Возбудитель болезни Марека регулярно обнаруживают у больных кур. В клетках опухоли вируса мало, и выделить его трудно, особенно в чистом виде. Как и возбудитель болезни Бэркита, он очень прочно связан с клеткой. Все же ДНК вируса была выделена. Ее размеры и структура соответствовали другим вирусам герпеса. Принадлежность к ним возбудителя болезни Марека подтверждена в многочисленных опытах. Огромную роль в этих исследованиях сыграл молодой английский ученый Питер Биггс.

С болезнью Марека, столь грозным для птиц заболеванием, научились бороться. Выведены устойчивые породы птиц и, что особенно примечательно, получена эффективная вакцина из ослабленного вируса. Это первый реальный успех в разработке противоопухолевой вакцинации.

Вирус болезни Марека не передается «вертикально» — от родителей к потомству. Инфекция распространяется только «горизонтально» между членами одного или близких поколений. Ее можно предупредить обычными эпидемиологическими мерами: изоляцией больных птиц и фильтрацией воздуха.

В последнее время появились данные о роли вируса герпеса в возникновении опухолевых разрастаний лимфоидной ткани у молодых кроликов из рода *силвилягус*. В 1968 г. Г. Хинце выделил от больного кролика вирус герпеса, получивший название по роду животного — *герпес силвилягус*. При введении здоровым новорожденным кроликам того же рода он вызывал доброкачественное, а иногда и злокачественное заболевание и находился в крови и пораженной лимфоидной ткани больных животных до конца их жизни.

Вирус обладает строгой специфичностью, поражая кроликов только рода *силвилягус*. Лабораторные животные оказались нечувствительными к нему. Чтобы поддержать вирус, Хинце и его коллеги зимой ловили диких кроликов и разводили их в течение всего лета. На этих-то животных они и провели все опыты.

Введение вируса кроликам всегда приводило к заболеванию: уже со второй недели число лейкоцитов увеличивалось примерно до 15 000 и более, изменялась формула белой крови, через полтора месяца зрелые и незрелые лимфоциты составляли 60—80% всех клеток крови. С этого момента кролики начинали гибнуть чаще всего от вторичной бактериальной инфекции, с которой они не могли бороться из-за того, что нарушалась выработка антител в их организме.

Вирусный антиген обнаруживается только в немногих опухолевых клетках. Есть ли он в остальных? Не связано ли его отсутствие с неспособностью вируса обеспечить себе полный цикл развития? Многие в заболевании диких кроликов надо еще изучить, чтобы уяснить механизм опухолеродного действия вируса.

Интересны два вируса герпеса, выделенные Р. Хантом, Л. Мелендесом и другими из почек здоровых обезьян саймири и ателес. Оба они получили названия вида обезьян, у которых были обнаружены. В культуре ткани вирусы вели себя обычным образом, но при введении обезьянам мармосет вызывали злокачественные лимфомы,

в которых уже не удавалось найти ни вирусных частиц, ни вирусного антигена. Когда опухолевые клетки помещали в культуру, вирусы снова начинали размножаться. У естественных хозяев эти вирусы, по всей видимости, опухолей не вызывают, но они легко распространяются от обезьяны к обезьяне, приводя выработку антител.

Вирус герпеса саймири, как оказалось, опухолероден для 5 видов низших обезьян и белых новозеландских кроликов. В одном из опытов он вызвал развитие лимфомы даже у гиббона. Таким образом, спектр опухолеродного действия этого вируса довольно широк. Естественные хозяева обоих обезьяньих вирусов, не чувствительные к их опухолеродному действию, служат природным резервуаром. Причина их устойчивости не ясна. В культуре ткани герпес саймири, трансформируя клетки, по некоторым данным, интегрируется с клеточной ДНК.

Существенно еще одно наблюдение. Неожиданно выяснилось, что при лейкозах и лимфомах морских свинок также удастся выделить вирус герпеса. Лейкоз морских свинок, подобно лейкозам других грызунов, связывают с РНК-содержащим вирусом. Однако в культуре лейкозных клеток регулярно обнаруживается агент со свойствами ЭБВ. Он не вызывает лейкоза при введении здоровым животным, и его «участие» в развитии заболевания не выяснено. Но эти исследования, указывающие на возможную связь между РНК- и ДНК-содержащими вирусами, несомненно, заслуживают самого пристального внимания.

Итак, ДНК-содержащие вирусы, способные превращать нормальные клетки в опухолевые в условиях эксперимента, ничем принципиально не отличаются от других представителей этой группы. Обычно они ведут к инфекционному процессу, и нужен какой-то совершенно особый комплекс условий для проявления их опухолеродных свойств. У некоторых вирусов, несмотря на весьма широкое распространение, опухолеродные свойства вне эксперимента, по-видимому, вообще не проявляются; другие вызывают доброкачественные опухоли (вирусы бородавок, оспенный вирус обезьян Яба), и лишь немногие, например вирус болезни Марека, и, вероятно, ЭБВ,— злокачественное заболевание.

Перед исследователем стоит важная задача выяснить факторы, влияющие на поведение всех этих вирусов. Разумеется, следует учесть и возможность взаимодействия

ДНК-содержащего вируса с повсеместно распространенными РНК-содержащими опухолеродными агентами, о которых мы расскажем дальше.

РЕШАЮЩЕЕ ОТКРЫТИЕ

Вирусы саркомы и лейкоза кур и мышей, с которых мы начали рассказ об опухолеродных вирусах, относятся к РНК-содержащим. Все опухолеродные РНК-содержащие вирусы объединены в группу *онкорнавирусов*⁵⁵. Их наследственное вещество существенно отличается от клеточной ДНК. После того как было доказано, что при инфекции ДНК-содержащими опухолеродными агентами происходит слияние ДНК вируса с ДНК клетки и что это является важным моментом в опухолеродном действии, естественно, встал вопрос об онкорнавирусах.

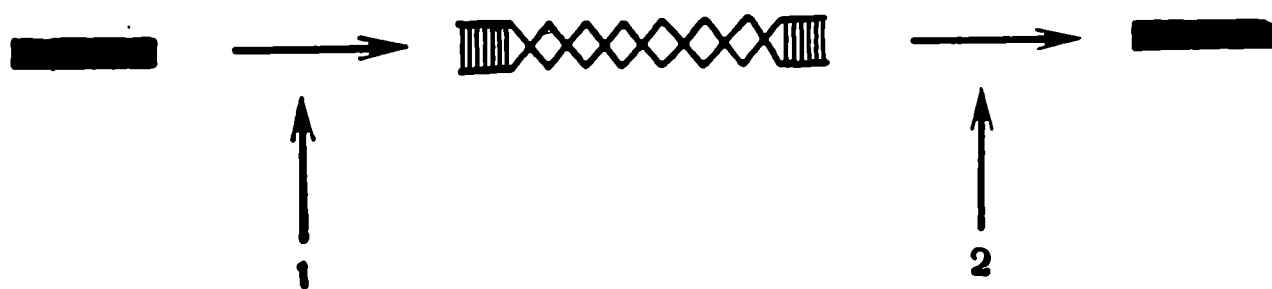
Слияние РНК вируса с ДНК клетки немыслимо. Но столь же трудно предположить, что каждый из двух типов опухолеродных агентов использует для трансформации принципиально отличающийся механизм. В какие же взаимоотношения вступает онкорнавирус с наследственным аппаратом клетки? Долгое время этот вопрос оставался для ученых камнем преткновения.

Первые важные данные, приоткрывавшие завесу, получил молодой американский ученый Говард Темин. В 60-х годах он обнаружил, что вирус Рауса не размножается в присутствии антибиотика — актиномицина Д. Это было непонятно, так как актиномицин Д не действует прямо на РНК и не препятствует ее синтезу на матрице РНК. Он подавляет лишь синтез тех РНК, которые образуются на матрице ДНК. Инфекционные вирусы, например гриппа или полиомиелита, хорошо размножаются в присутствии этого антибиотика. В чем же дело? Может быть, в синтезе наследственного аппарата вируса Рауса участвует ДНК?

Темин высказал предположение, что при образовании дочерних молекул РНК этого вируса включается проме-

⁵⁵ Слово «онкорнавирус» образовалось от греческого слова «онкос» — опухоль и первых букв английского обозначения РНК — «RNA» (ribonucleic acid).

жуточная фаза переноса информации с РНК на ДНК, т. е. синтез наследственного аппарата вируса происходит следующим образом: вирусная РНК→вирусная ДНК→→вирусная РНК. Актиномицин Д прерывает этот процесс



Влияние веществ, задерживающих синтез ДНК, и актиномицина Д на размножение вируса Рауса

Черные прямоугольники — вирусная РНК, в центре — ДНК-провирус, включенный в ДНК клетки. Стрелками показано, что вещества, задерживающие синтез ДНК в клетке (1), прерывают процесс репликации вируса на стадии РНК→ДНК, а актиномицин Д (2) — на стадии ДНК→РНК.

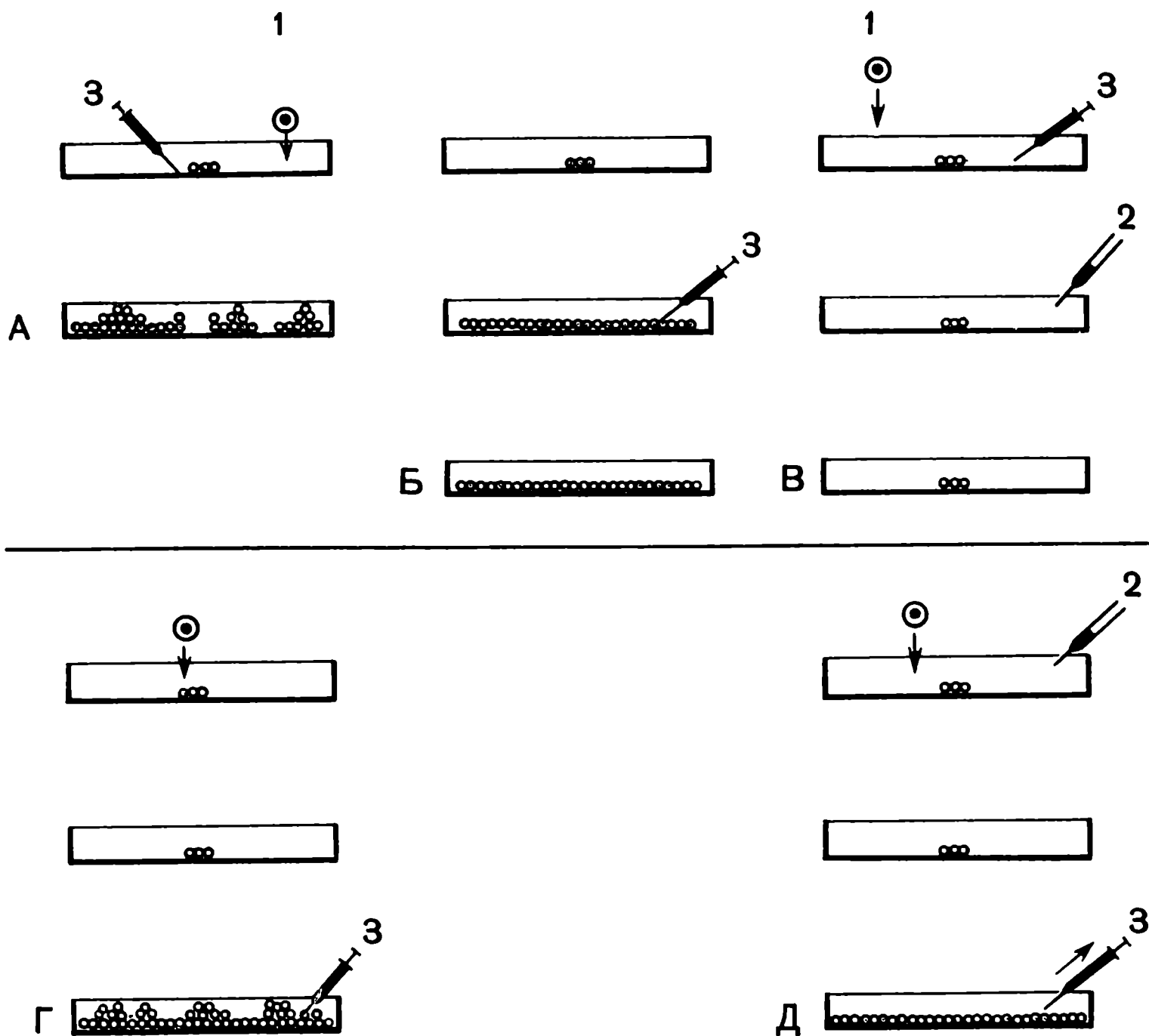
на фазе ДНК→РНК и таким образом препятствует размножению вируса.

Это была очень смелая мысль. Она противоречила одному из основных положений молекулярной биологии о том, что наследственная информация не передается с РНК на ДНК.

Еще ранее о возможности переноса информации с РНК на ДНК писал американский генетик Гунтер Стент. Советский ученый С. М. Гершензон выявил этот перенос экспериментально у вирусов насекомых. К мысли о его существовании приводят также теоретические работы В. П. Эфроимсона.

Говард Темин подтвердил результаты, полученные с актиномицином Д, опытами с другими веществами, препятствующими синтезу всех ДНК в клетке. Введенные вместе с вирусом Рауса, они также защищали от инфекции. По-видимому, их защитное действие связано с нарушением передачи информации с вирусной РНК на ДНК. Это подкрепляло взгляд Темина.

Но все же опыты Темина допускали и другое толкование. Для образования вирусных частиц в инфицированной клетке должно произойти нормальное клеточное деление. Вещества, задерживающие синтез ДНК, препятствуют этому. Может быть, вирус не размножается именно по такой причине, а не из-за подавления синтеза ДНК на матрице вирусной РНК?



Доказательство участия ДНК в репликации вируса Рауса

А — введение вируса в культуру с сывороткой, где клетки делятся, ведет к их трансформации; Б — клетки без вируса растут одним слоем; В — введение в такую культуру вслед за вирусом вещества, задерживающего синтез ДНК, препятствует делению и инфекции клеток. Это подтверждают опыты Г и Д; Г — введение вируса в неделящуюся культуру без сыворотки не вызывает в ней изменений, но клетки инфицируются, и при добавлении сыворотки начинается трансформация и беспорядочное их деление; Д — введение в неделящуюся культуру вируса Рауса вместе с веществом, задерживающим синтез ДНК, препятствует инфекции клеток: при последующем удалении ингибитора (стрелка) и введении сыворотки начинается их нормальное размножение. Введение вируса — 1, ингибитора — 2, сыворотки — 3 (по Г. Темину)

Темин придумал оригинальный опыт, который показал, что ДНК — необходимое звено в репликации вирусной РНК. Он использовал в нем комбинацию двух факторов. Один из них — сыворотка, которая содержит специфический сложный белок⁵⁶, стимулирую-

⁵⁶ Этот белок представляет собой гликопротеин с молекулярным весом 4000—5000.

щий деление. В культуре без сыворотки вирус не размножался, но стоило ее добавить — начиналось деление клеток и образование вирусных частиц. Если в культуру без сыворотки одновременно с вирусом Рауса вводили второй фактор — вещество, задерживающее синтез ДНК, клетки не инфицировались, хотя оставались вполне жизнеспособными и при добавлении сыворотки начинали делиться.

Итак, суть не в прекращении деления, а в подавлении синтеза ДНК. Следовательно, для инфекции образование ДНК необходимо, и она является промежуточным продуктом для синтеза РНК вируса.

Американские вирусологи Марсел Балуда и Деби Найак из Лос-Анджелеса получили гибрид РНК вируса лейкоза птиц с ДНК, выделенной из инфицированных им клеток. Подобные гибридные молекулы (РНК — ДНК) могли образоваться лишь в том случае, если ДНК имела последовательности нуклеотидов, комплементарные РНК вируса; или, иначе говоря, если обе нуклеиновые кислоты несли одинаковую наследственную информацию. Каждая из них могла возникнуть в результате переписывания с другой. Но эти данные также противоречили основному положению молекулярной биологии о невозможности переноса информации от РНК к ДНК и были встречены с недоверием. Ведь синтез ДНК на матрице РНК не может протекать без специфического фермента. А такого фермента в то время не знали.

Все упиралось в фермент, участвующий в промежуточном синтезе ДНК на матрице вирусной РНК. Темин приступил к его поискам. Он привлек к этой работе только что приехавшего к нему японского ученого Сатоши Мицутани. Вместе они просмотрели всю литературу о методах обнаружения ферментов в вирусных частицах. Наконец, метод был выбран. У вируса Рауса разрушали внешнюю оболочку, затем добавляли меченые блоки, необходимые для построения молекулы ДНК. Если в вирусе есть искомый фермент, из блоков по подобию РНК будет построена ДНК.

И вот наступила волнующая минута: что покажет счетчик радиоактивности? Ученые едва верили своим глазам: вновь образованная ДНК имела радиоактивную метку. Итак, доказано: вирус саркомы Рауса содержит фермент, участвующий в образовании цепи ДНК, дополнительной, комплементарной к его РНК, или, иначе говоря, фермент,

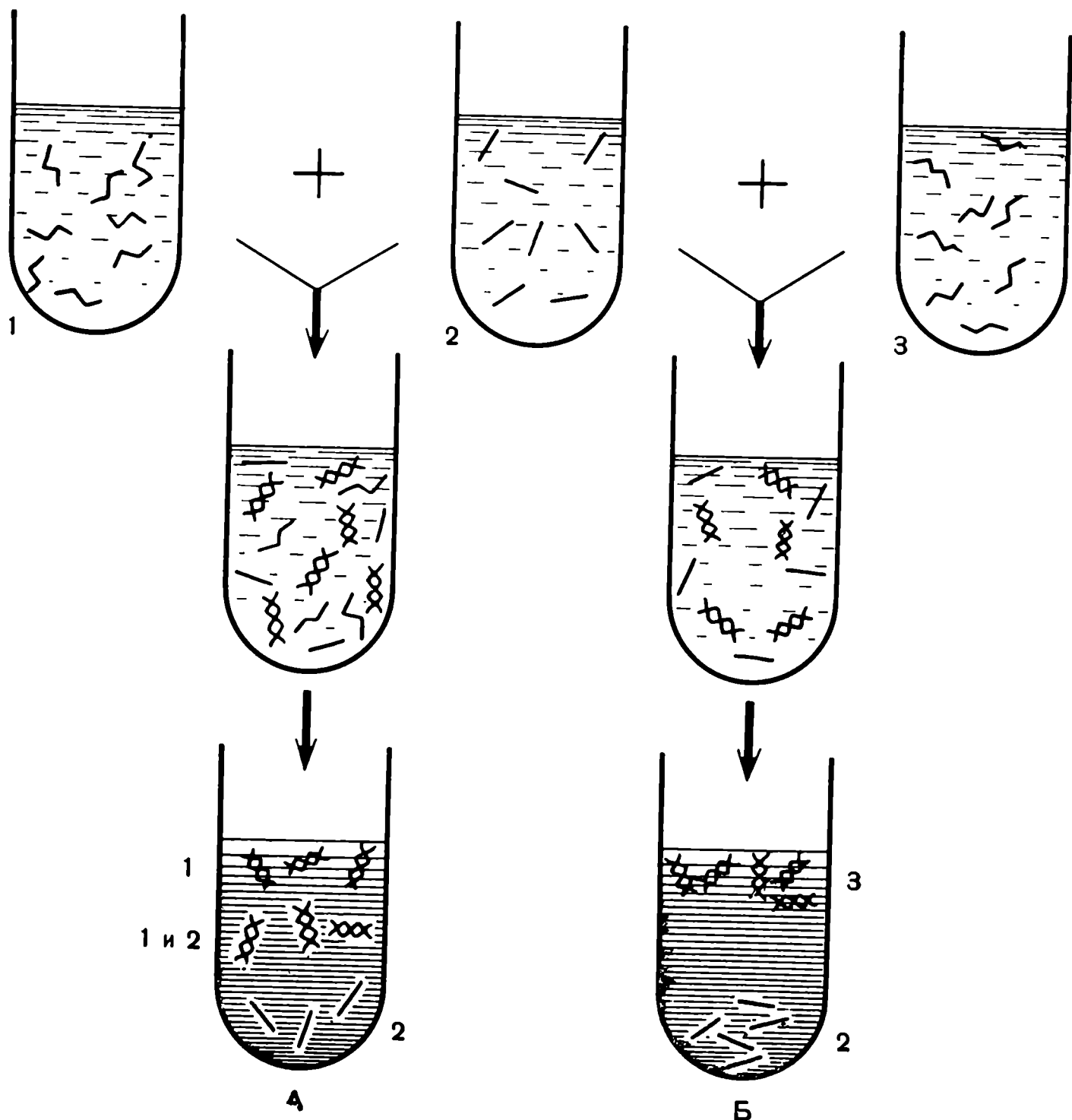


Схема опыта гибридизации нуклеиновых кислот

1 — диссоциированные молекулы ДНК (получены на матрице вирусной РНК с помощью обратной транскриптазы), 2 — меченая вирусная иРНК, 3 — диссоциированные молекулы невирусной ДНК. А и Б — центрифугирование в градиенте плотности, А — в зоне промежуточной плотности обнаруживаются гибриды, включающие меченые молекулы РНК; Б — вся радиоактивность сосредоточивается в зоне РНК. Гибриды с ДНК из другого источника не образуются (по Г. Темину)

обеспечивающий переписывание информации с вирусной РНК на ДНК. Ученые торжествовали победу.

Этот поразительный результат они решили держать в тайне даже от самых близких друзей, пока каждая деталь опыта не будет снова и снова проверена. «Мы знали, что любой намек достаточен, чтобы через пару дней об опытах узнали во всем мире», — говорил Темин. В мае 1970 г. на 10 Международном противораковом конгрессе в Хьюстоне (США) Темин рассказал о своем открытии.



ГОВАРД ТЕМИН



ДЭВИД БАЛТИМОР

Не успел он вернуться к себе в Висконсин, раздался телефонный звонок. Дэвид Балтимор из Кэмбриджа спешил сообщить коллеге, что онкорнавирус содержит фермент, синтезирующий ДНК. «Я это знаю,— сказал Темин.— Но откуда вы узнали?» «Я открыл это»,— ответил Балтимор. «Вы открыли это?! — воскликнул Темин.— Это открыли мы».

Тут же выяснилось, что Балтимор ничего не слышал о сообщении Темина на конгрессе. Ученые, работая независимо друг от друга, сделали одно и то же открытие.

В июньском номере английского журнала «Nature» за 1971 г. появились данные обоих ученых. Но Балтимор подчеркивал приоритет Темина: «Вся жизнь Говарда была посвящена выяснению репликации опухолевых вирусов. Я же в этой области новичок».

Балтимор провел свои опыты на модели вируса лейкоза птиц. Обнаружение в составе этого вируса фермента, катализирующего образование ДНК на матрице РНК, косвенно подтверждало выводы Балуда и Найака.

Теперь, когда в руках исследователей оказался фермент, необходимый для синтеза вирусной ДНК, можно было поставить прямые опыты. Ученые незамедлительно приступили к ним.



Снова вирусные частицы освобождали от оболочки, добавляли блоки, необходимые для построения молекулы ДНК. Если вирусную РНК разрушали специфически действующим на нее ферментом — *рибонуклеазой*, то синтез ДНК не происходил. Этот опыт подтверждал, что синтез идет на матрице вирусной РНК по следующей схеме: РНК $\xrightarrow{\text{фермент}}$ ДНК. Поскольку направление синтеза противоположно клеточному (ДНК $\rightarrow$ РНК), новый фермент называли *обратной транскриптазой*.

Уже через несколько дней после сообщения Темина в Хьюстоне известный американский генетик Спигельман обнаружил обратную транскриптазу у восьми онкорнавирусов.

Что заставило ученого и что помогло ему проделать всю эту работу в столь фантастически короткий срок? Всю свою жизнь Спигельман посвятил генетике микроорганизмов. Первая его работа, посланная в американский журнал «Генетика», была возвращена ему с письмом редактора: «Хорошо известно, что бактерии не имеют ядра, а следовательно, у них нет генетики». От бактерий —

к дрожжам, от дрожжей — к фагу, от фага — к опухолеродным вирусам — таков путь генетических исследований Спигельмана. Они привели его к мысли, что для репликации онкорнавируса нужен особый фермент.

Ученый был в Хьюстоне на докладе Темина. Он тотчас приступил к поискам обратной транскриптазы в составе других онкорнавирусов, так как еще раньше подготовился к проведению подобных исследований.

В дальнейшем фермент был найден у всех представителей этой группы, но ни у одного инфекционного вируса животного. Исключение на первых порах составили только вирусы прогрессивной пневмонии мышей, вирус висна у овец, пенистые вирусы обезьян и кошек. Позднее установили, что два первых способны трансформировать клетки в культуре ткани, и можно предполагать у них опухолеродные свойства.

Пенистые вирусы обезьян и кошек, которые часто встречаются в клеточных культурах, ни с каким определенным заболеванием животных связать не удалось. Не выявлена у них и способность вызывать опухоли или трансформацию клеток. Но вопрос, обладают ли они опухолеродной активностью, имеет принципиальное значение, поскольку с обратной транскриптазой связано размножение онкорнавирусов.

В самое последнее время появились указания о наличии фермента в составе вируса ящура, а также в одном из вирусов, найденном при инфекционном гепатите человека (в так называемом австралийском антигене).

Очень важные данные в Нью-Йоркском городском институте народного здоровья получил Х. Ханафуза, выделивший вирус Рауса, дефектный в отношении обратной транскриптазы. Этот вирус не размножается и не трансформирует клетки. Сейчас выделены и другие дефектные в отношении фермента вирусы: саркомы мышей и злокачественной лимфомы хомяка Д9.

Обратная транскриптаза уже в раннюю стадию инфекции строит на одонитчатой РНК опухолеродного вируса двухнитчатую ДНК. Эта ДНК-копия необходима для его размножения.

Размер ДНК, синтезируемой под влиянием обратной транскриптазы, точно определен с помощью специального метода центрифугирования в вязком растворе, при котором молекулы осаждаются в

разных зонах в соответствии с их плотностью и размером. Образующие ДНК — короткие молекулы — примерно в 10 раз меньше полной копии вирусной ДНК. Фермент — обратная транскриптаза осаждается вместе с материалом, составляющим ядро вирусной частицы. Это показывает, что он находится в вирусном ядре. При сильном разрушении вирусной частицы удается освободить фермент от вирусной РНК. Очищенный, он направляет синтез ДНК и в пробирке, используя в качестве матрицы естественную и синтетическую ДНК, РНК и гибридные молекулы ДНК—РНК. В некотором отношении обратная транскриптаза сходна с другими полимеразы, необходимыми для синтеза ДНК в биологических системах. Однако в жизни опухолеродного вируса она играет главную роль, не только участвуя в его размножении, но обеспечивая ему особую форму существования в клетке.

Уже говорилось, что превращение нормальной клетки в злокачественную под влиянием ДНК-содержащего опухолеродного вируса рассматривается как результат включения вирусной ДНК в клеточный геном. Пока для онкорнавируса такой механизм казался невероятным, давала осечку и теория «интеграции» двух геномов как основы злокачественного превращения. Лишь после того, как выявили обратную транскриптазу, образующую ДНК на матрице РНК, все вроде бы стало на свое место.

ОНКОРНАВИРУСЫ

Многие ученые считают, что большинство природных опухолей вызвано онкорнавирусами. Об этих вирусах известно уже довольно много. Все они округлой формы, довольно крупных размеров, 80—100 нанометров в диаметре, со сферическим ядром. По его периферии, как бы образуя полую сферу, расположены сверхскрученные нуклеопротеиновые нити. В электронный микроскоп можно увидеть, что вирус имеет две оболочки. От внешней оболочки иногда отходят отростки-пишечки. Функция их до сих пор не выяснена.

Ядро вирусной частицы чаще всего расположено в центре. Такие структуры с гладкой поверхностью получили название С-частиц. Зрелые С-частицы имеют

Схема строения онкорнавируса

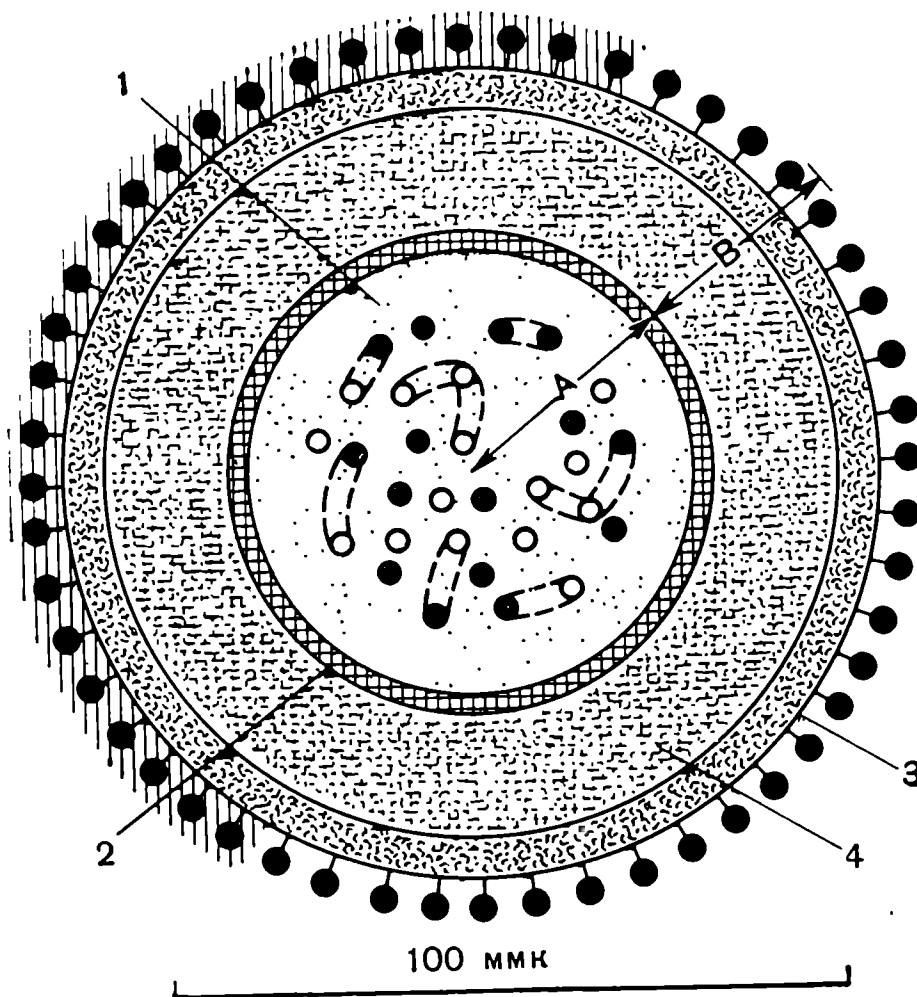
А — внутренние структуры,
В — внешние;

1 — ядро (включает РНК вируса, группоспецифический антиген, обратную транскриптазу);

2 — внутренняя оболочка;

3 — внешняя оболочка вирусной частицы;

4 — межоболочечный материал (по Дж. Бирду и др.)



плотное ядро, у незрелых центральная часть оптически светлая. Описаны и «хвостатые» формы, но «хвосты» образуются только в результате выпячивания легко деформирующегося мягкого вещества внешней оболочки вируса. Кроме С-частиц встречаются и частицы типа В, со сдвинутым к оболочке ядром и неровной поверхностью. Чаще всего их находят при раке молочных желез мышей. Наконец, А-частицы имеют центрально расположенное светлое ядро и очень плотную околоядерную оболочку. Три типа частиц — А, В и С отличаются не только по виду, но и по особенностям созревания и расположения в клетке.

Все онкорнавирусы созревают на клеточной мембране, как бы отпочковываясь от нее. При выходе частиц из клетки нуклеопротеиновые нити раскручиваются и заполняют их внутреннее пространство. Симметрия, свойственная структуре нуклеокапсида, обнаруживается поэтому лишь в отпочковывающихся частицах. Позднее она нарушается. Эти особенности строения и формирования вирусных частиц позволяют отличить при электронной микроскопии онкорнавирусы от вирусов других групп.

Весьма сложен их химический состав: РНК составляет 0,8—2,5%, белки — 60%, липиды — 27—35%.

Кроме собственно вирусных веществ в состав частицы входят субстраты клеточного происхождения, захваченные при ее созревании и отпочковании от клеточной мембраны: гликопротеиды, липиды, а согласно некоторым данным, — и малые молекулы ДНК, содержащие всего по 200 нуклеотидов в каждой цепи. Функция их не выяснена. Известно, что для образования инфекционных вирусных частиц они не существенны.

Наследственный аппарат вируса — это крупная однонитчатая РНК с молекулярным весом 10 млн. Очень важные характеристики вируса: коэффициент осаждения нуклеиновой кислоты — 70S и плавучая плотность частицы — 1,16 г/мл.

Под влиянием температуры и других воздействий в препарате вирусной 70S-РНК образуются молекулы с коэффициентом осаждения 35S, с большей подвижностью при электрофорезе и соответственно меньшим молекулярным весом.

Предполагают, что РНК вирусного ядра представляет собой агрегат трех-четырех фрагментов с молекулярным весом 10 млн. каждый. Подобная фрагментарная структура не является особенностью только этой группы вирусов. Возбудитель гриппа тоже имеет наследственный аппарат, составленный из отдельных фрагментов РНК. Как образуется агрегат, какова его структура, отличны или одинаковы фрагменты между собой, все ли они участвуют при размножении опухолеродных вирусов и трансформации клетки — эти вопросы ждут своего разрешения.

Наряду с крупной молекулой РНК (70S) в вирусных частицах обнаруживают и более мелкие однонитчатые молекулы (с коэффициентом осаждения 28S, 18S, 7S и 4S). Пока еще не ясно, где располагаются разные молекулы РНК в вирусной частице, всегда ли их количество постоянно и какую роль они играют.

В состав онкорнавирусов входят весьма разнообразны́е белки. К ним относятся антигены. Наиболее важные из них: группо- и типоспецифические.

Группоспецифические антигены находятся внутри вирусной частицы, в ее ядре. Число их точно не определено. Из шести известных наиболее изучены первый (gr_1) и третий (gr_3).

Первый группоспецифический антиген является общим для всех онкорнавирусов одного вида животного («внутривидовой»), а третий — для онкорнавирусов одного класса животных, например млекопитающих или птиц. Он не об-

ладает видовой специфичностью, и его называют «межвидовым». По характеру третьего группоспецифического антигена (gr_3) можно определить, к какому классу животных принадлежит данный вирус, а по характеру первого (gr_1) — вид животного — хозяина.

Четвертый группоспецифический антиген, по-видимому, тесно связан с вирусной РНК, поэтому ему приписывают существенную роль в опухолеродном действии вируса.

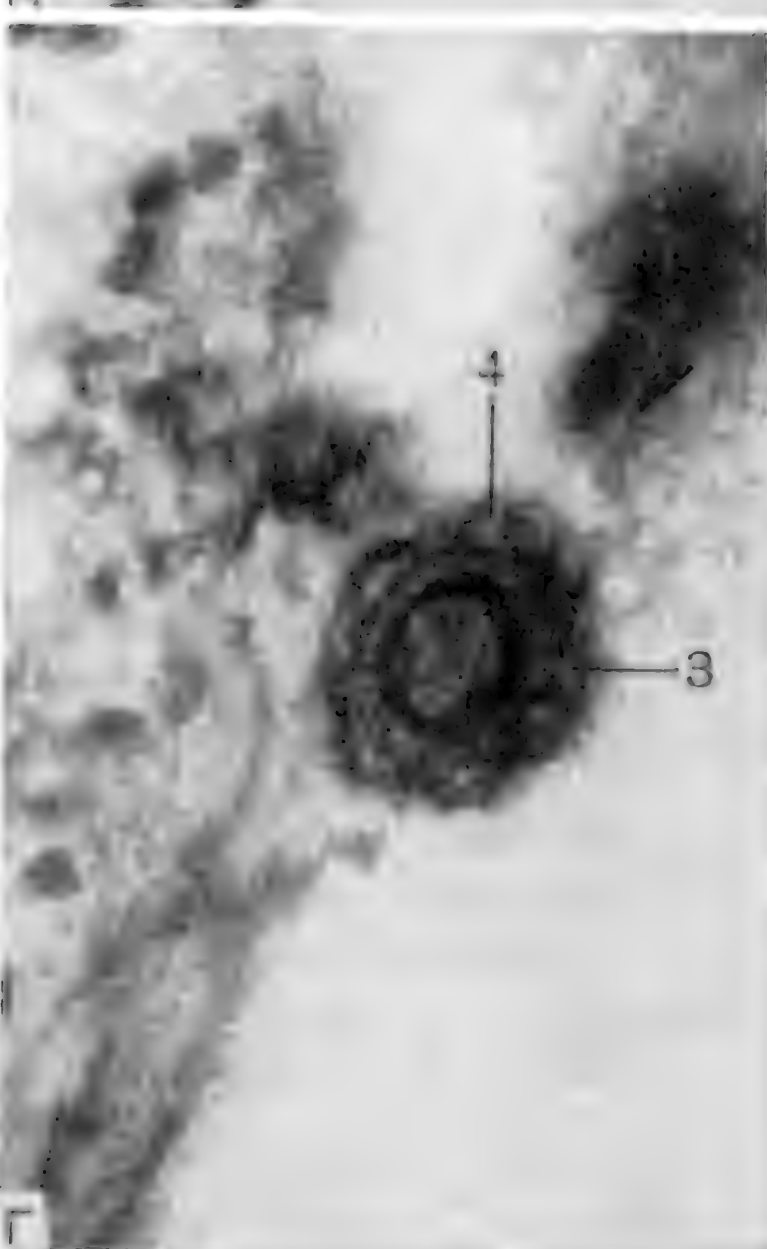
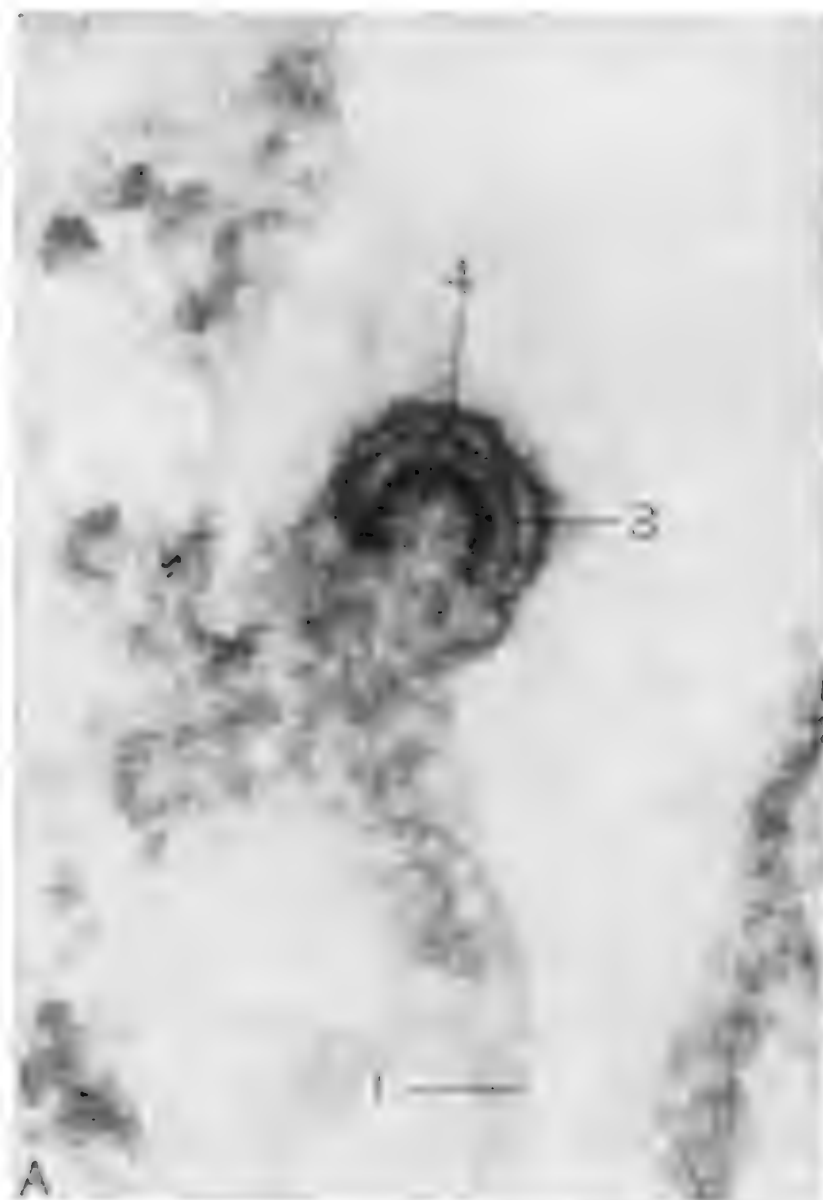
По особенностям третьего группоспецифического антигена онкорнавирусы делятся на большие группы: опухолеродные вирусы птиц, млекопитающих, менее изученные опухолеродные вирусы пресмыкающихся и еще менее — земноводных. В общем группоспецифические антигены составляют комплекс белков высокого молекулярного веса, определяющих многие свойства опухолеродных вирусов. Они интенсивно изучаются, и каждый день приносит что-нибудь новое.

Группоспецифические антигены помогают в поисках новых опухолеродных вирусов и установлении их видовой принадлежности. С помощью антител, реагирующих только с группоспецифическим антигеном, можно выяснить важные вопросы.

Обнаружение группоспецифического антигена даже в отсутствие инфекционных вирусных частиц всегда указывает на инфекцию опухолеродным вирусом. Если в организме животного нет наследственного вещества вируса, то нет и группоспецифического антигена. Поэтому усилия ученых были направлены на его выявление.

Чтобы определить характер группоспецифического антигена нужны специфические антитела, а для их получения в свою очередь необходим чистый препарат антигена. Таким образом, все сосредоточивалось на нем, пока в лаборатории известного американского ученого Роберта Хюбнера не был выделен чистый группоспецифический антиген. На получение 1 г группоспецифического антигена затратили миллион долларов. «Это фантастически дорогая работа», — отмечал американский журнал. Ведь, имея 1 г антигена, можно вызвать выработку антител только у 10 морских свинок. Однако это дало Хюбнеру возможность решить вопросы принципиальной важности.

Каждый из онкорнавирусов имеет еще поверхностный антиген, который определяет специфику вируса и носит название *типоспецифического*.



Типоспецифический антиген — это сложный белок — гликопротеид с высоким молекулярным весом (около 30 000—70 000). Находясь в оболочке частицы, он вызывает образование антител, нейтрализующих вирус. По характеру антител определяют, какой вирус инфицировал организм.

Некоторые опухолеродные вирусы включают в свой состав и чисто клеточные антигены, захваченные при отпочковании от клеточной оболочки.

Знание всех особенностей антигенной структуры опухолеродных вирусов крайне существенно: на ней основаны многие методы их обнаружения и распознавания.

Среди белков онкорнавирусов особое место занимают ферменты. Их насчитывают около 14, причем некоторые имеют клеточное происхождение и попадают в частицу при ее формировании. Эти ферменты располагаются вне вирусного ядра.

Мы уже писали, что наиболее характерным ферментом онкорнавирусов является обратная транскриптаза, и ее присутствие в клетке — всегда показатель инфекции именно опухолеродным вирусом. В ядре онкорнавируса имеются и другие ферменты — Н-рибонуклеазы, дезоксирибонуклеазы и ДНК-лигазы. Все они, по-видимому, участвуют в воспроизведении наследственного аппарата вируса в клетке.

Важная роль обратной транскриптазы побудила ученых детально изучить этот фермент.

Его выделили в чистом виде из вируса лейкоза птиц. Выяснилось, что фермент обеспечивает синтез ДНК по подобию РНК разного происхождения, но определенного размера. Например, в качестве шаблона, или матрицы, может служить РНК того вируса, из которого выделен

Стадии формирования вирусной частицы на клеточной оболочке (электронная микроскопия)

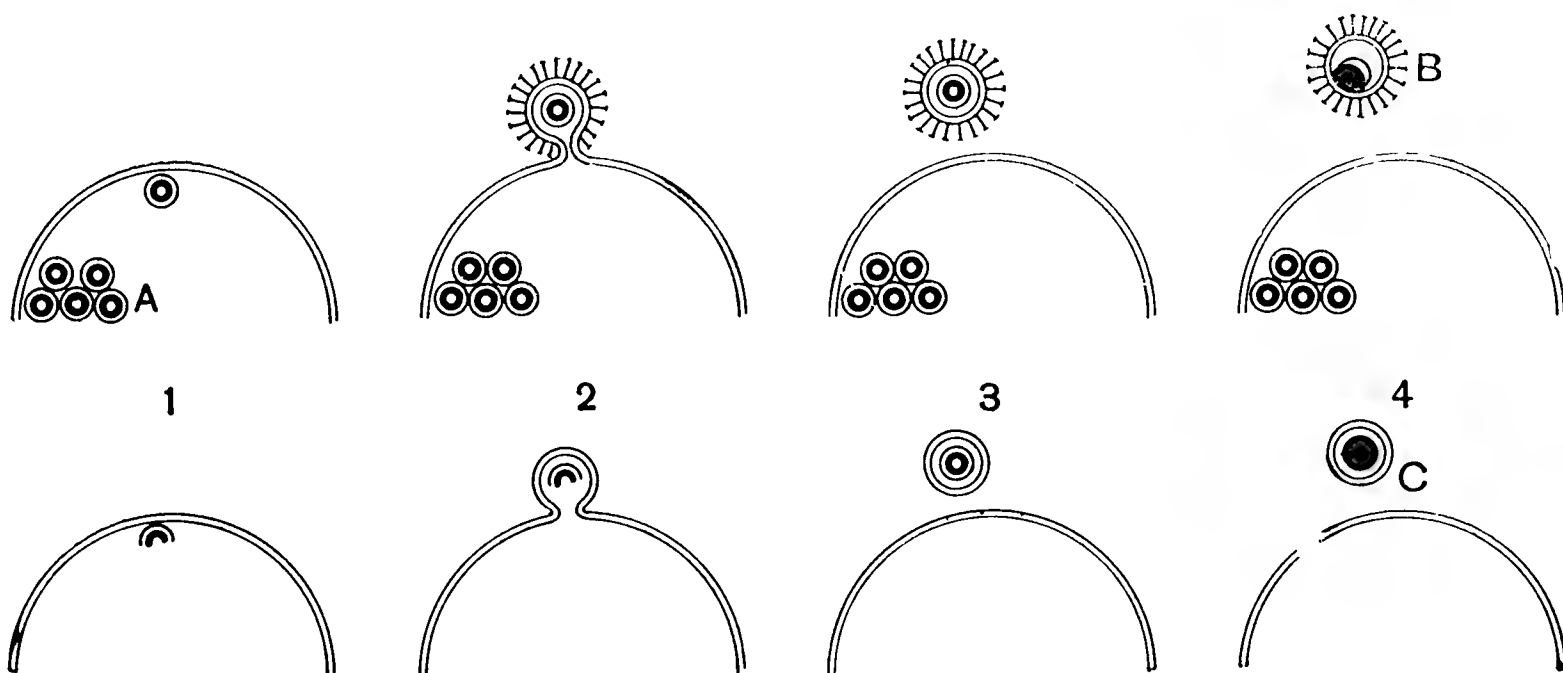
А — образование на клеточной оболочке «почки», в которой видны две оболочки — внешняя и промежуточная; Б — образование ножки, на которой находится почти сформировавшаяся частица; В — утоньшение ножки; Г — отпочкование частицы от клеточной оболочки.

1 — оболочка клетки, 2 — ножка, 3 — внутренняя оболочка вирусной частицы, 4 — внешняя оболочка вируса; стрелкой помечена промежуточная оболочка частицы вируса (по Харвену и Френд)



Вирусные почки на поверхности лейкозной клетки

Почки (помечены стрелкой) беспорядочно распределены по клеточной поверхности (электронная микроскопия. Увеличение 15 000. По Э. Харвену, Н. Лампену и Т. Сато)



Схематическое изображение частиц В и С (А — стадия В) в процессе их созревания (1—4) (по Н. Г. Саркару и др.)

фермент, а также из бактериофага, из клетки кролика и даже из клетки человека. Во всех случаях в опыте удается синтезировать ДНК, представляющую слепок со взятой РНК. Это открывает перед современной наукой почти фантастические возможности. Ученые думают, что с помощью обратной транскриптазы можно будет синтезировать гены любого происхождения, включая гены человека.

Модель нуклеокапсида
онкорнавируса (по Н. Г.
Саркару и др.)



В ходе исследования фермента возник еще ряд вопросов. Первый вопрос: одинакова ли обратная транскриптаза у разных опухолеродных вирусов? Пока нам известно следующее. Каждый вид опухолеродного вируса имеет иммунологически отличный фермент. Каждый фермент представляет собой белок, обладает свойствами антигена, участвует в реакциях иммунитета, вызывает образование антител. Обратные транскриптазы вирусов мелких млекопитающих (мышей, крыс, хомяков, кошек) дают перекрестные реакции иммунитета, т. е. являются родственными. Но хотя антитела к ферменту вируса животного одного вида реагируют с ферментами вирусов других видов, полного истощения не наблюдается. Это указывает на известную видовую специфичность обратной транскриптазы. Таким образом, опухолеродные вирусы мелких млекопитающих имеют родственные, но отличающиеся друг от друга ферменты.

Второй вопрос: в каких взаимоотношениях находится обратная транскриптаза с группоспецифическим антигеном. После того как фермент был получен в чистом виде, выяснилось, что его можно отделить от группоспецифического антигенного комплекса.

Третий вопрос: как работает фермент? Обратная транскриптаза осуществляет синтез ДНК, используя в качестве матрицы РНК вируса, так что образуемая ДНК оказывается как бы слепком, копией его РНК.

Сколько копий ДНК образует фермент на матрице вирусной РНК?

По имеющимся данным, с наследственного аппарата одной вирусной частицы формируется только одна новая ДНК. Вид, структура, химический состав, ферменты, антигены, особенности репликации и созревания частиц — все это взято на вооружение при поисках новых онкорнавирусов.

«ХОЗЯЕВА» ОНКОРНАВИРУСА

Какие факторы влияют на инфекцию клетки онкорнавирусом? Осуществится или нет инфекция — зависит от особенностей клетки, от стадии ее *дифференциации* (зрелая или незрелая), наличия рецепторов для связывания вируса. Восприимчивость клетки к вирусу определяется клеточными генами. Только при стечении многих обстоятельств опухолеродный агент инфицирует клетку.

А как протекает инфекция онкорнавирусом?

Сначала он адсорбируется на клетке. В этом процессе основную роль играют белки вирусной оболочки и клеточные рецепторы. У клеток, не имеющих соответствующих рецепторов, инфекция не происходит. В чувствительных клетках адсорбированный вирус проникает через клеточную мембрану, сбрасывает свою белковую оболочку и создает таким образом условия для функционирования ферментов, заключенных в ядре вирусной частицы. Вирусная РНК перемещается в ядро клетки. Это перемещение — характерная особенность онкорнавирусов. Почти все другие РНК-содержащие вирусы остаются в цитоплазме клетки.

В клеточном ядре на матрице РНК вируса при участии обратной транскриптазы и других вирусных ферментов происходит синтез двухнитчатой ДНК, названной *ДНК-провирусом*.

Наличие провируса свойственно только онкорнавирусам, для размножения которых необходима промежуточная фаза ДНК. Все

другие одновитчатые РНК-содержащие инфекционные агенты синтезируют свои РНК через промежуточную фазу двухнитчатой РНК. В клетках, инфицированных опухолеродными вирусами, двухнитчатых РНК, по-видимому, нет.

В клетках кур, трансформированных вирусом саркомы Рауса, его размножение происходит в условиях, предупреждающих образование двухнитчатых РНК с участием ДНК-провируса, который служит промежуточным звеном. Итак, путь репликации РНК: вирусная РНК $\rightarrow$ ДНК-провирус $\rightarrow$ РНК. Начальный продукт при синтезе ДНК-провируса — гибридная молекула РНК — ДНК.

Хотя образуемый ДНК-провирус имеет небольшой молекулярный вес, он обладает высокой специфичностью для опухолеродного вируса. Поэтому и окончательный продукт — вирусная РНК — строго специфичен.

ДНК-провирус включается в ДНК клетки. В этом процессе тоже участвуют ферменты вирусного ядра, в частности лигазы, которые как бы «вшивают» молекулы вирусной ДНК в определенные участки хромосомы клетки.

Наличие в клеточных хромосомах «подходящих» участков считается важным моментом включения в них наследственного аппарата вируса. Предполагают, что он имеет специальный механизм для их распознавания. Всегда ли ДНК-провирус входит в ДНК клетки? У саркоматозных вирусов ДНК-провирус обнаружен только в хромосомах, у лейкозных же описано его свободное внехромосомное расположение.

Клеточное деление существенно для разворачивающихся событий. Такая зависимость от клеточного деления свойственна только онкорнавирусам. В процесс размножения вируса включаются клеточные ферменты. Вновь синтезирующиеся молекулы вирусной РНК переходят в цитоплазму, где на рибосомах начинается синтез белков, носящих отпечаток вирусной специфичности. Клеточная машина претерпевает при этом существенные изменения. Ее ферменты — полимеразы работают на вирус, переписывая информацию с ДНК-провируса. Другие ферменты клетки участвуют в образовании гликопротеидов для вирусной оболочки, присоединяя к вирусным белкам углеводы. Этот процесс сопровождается изменением клеточных мембран, где формируются вирусные частицы.

Если вирус попадает в клетки чужеродного невосприимчивого организма, его РНК и белки синтезируются в

столь незначительном количестве, что вирусные частицы почти или совсем не образуются.

У саркоматозного вируса ДНК-провирус удваивается вместе с ДНК хромосомы, в которую он включен, и переходит при делении в дочерние клетки. У лейкозных вирусов удвоение ДНК-провируса, вероятно, не всегда зависит от хромосомы, и это создает возможность для освобождения от него дочерних клеток.

Клетки, измененные под влиянием вирус-специфических белков, приобретают свойства опухолевых вне зависимости от того, образуются или не образуются в них вирусные частицы. По-видимому, в опухолевом превращении клетки играет роль особый вирусный продукт: трансформирующий белок. ДНК-провирус может длительно находиться в инфицированной клетке, не образуя этого продукта, не повреждая клетку, не проявляя своего присутствия. Но скрытый, он несет в себе все необходимое, чтобы при соответствующих условиях активироваться: дать начало РНК и облечься в «новые одежды», необходимые для созревания частицы, или внести коренные изменения в клетку, превратив ее в опухолевую.

При формировании онкорнавирусов на клеточных оболочках из «заготовок» вирусных белков иногда образуются незрелые частицы, в которых нет РНК. При электронной микроскопии они имеют вид «бублика»: вокруг прозрачной, как бы пустой центральной части концентрически расположены круги — вирусные оболочки. Эти частицы не дают потомства.

Таковы современные представления о ходе инфекции онкорнавирусом. Слабым местом в них долгое время оставалось отсутствие прямых доказательств существования ДНК-провируса. Они были получены впервые чешскими учеными М. Хиллом и Я. Хилловой в 1972 г. Из клеток крыс, трансформированных вирусом саркомы Рауса (штамм Прага), ученые выделили ДНК и обнаружили у нее способность трансформировать клетки кур. Но главное, что в этих клетках появлялось потомство вирусных частиц со свойствами именно штамма Прага. Таким образом, в препарате ДНК трансформированной клетки действительно содержался ДНК-провирус. Эти данные уже нашли подтверждение в работе другого чешского ученого Яна Свободы.

Как распространяются онкорнавирусы в природе? Тщательные исследования показали, что они передаются «вертикально» — от одного поколения другому: у млекопитающих с половыми клетками и через молоко матери, у птиц — через яйца.

Если, например, мыши низколейкозной линии вскармливаются матерями высоколейкозной линии, они часто заболевают лейкозом. Но превратить таким образом низколейкозную линию в высоколейкозную не удастся. Количество вируса, передаваемого с молоком матери при вскармливании, невелико. Считают, что главный путь передачи вируса у мышей — непосредственно через хромосомы половых клеток. Однако у птиц, мышей и кошек описана передача от матери к потомству и свободного, не связанного с клеточными хромосомами вируса.

Наряду с «вертикальным» распространением может быть и «горизонтальное» — внутри одного поколения. Но значение его часто ничтожно. Птицы и особенно мыши восприимчивы к «горизонтальной» инфекции только в первые часы и дни жизни. Позднее чувствительность резко снижается. Только для некоторых онкорнавирусов домашних животных установлена контактная передача.

Опасны ли онкорнавирусы животных для человека? Размножаются ли они в его клетках?

Наши совместно с Д. М. Левиной опыты выявили, что один из лейкозных вирусов птиц размножается в эмбриональных и амниотических клетках человека, хотя и не вызывает их трансформации. Опыты Л. А. Зильбера и В. Я. Шевлягина в нашей стране, Б. Стенквиста и Ж. Понтена в Швеции, С. Зильбербаума и Г. Февра во Франции, Ф. Йенсена и других в США обнаружили трансформирующее действие птичьего вируса Рауса на клетки человека в культуре ткани. Поскольку многие вирусные вакцины (гриппозная, коревая, против желтой лихорадки и другие) изготавливались на куриных эмбрионах или культурах, естественно, резонанс опытов с вирусом Рауса был очень велик. Во многих лабораториях начали проверять вакцинированных: в крови у них искали антитела к куриному вирусу Рауса.

Советские ученые А. Т. Кравченко, А. Д. Альтштейн, Е. А. Щекочихина и другие исследовали группу лиц, много раз получавших живую гриппозную вакцину. Опасения не подтвердились. У ста с лишним детей и взрослых, вак-

цинированных против желтой лихорадки, также не было антител к куриному вирусу. Отрицательные результаты дали исследования детей после прививки живой коревой вакцины, изготовленной на куриных эмбрионах. Антитела к опухолеродным вирусам птиц не обнаруживались ни у работников лаборатории, постоянно контактировавших с этими вирусами (П. Сарма и другие), ни у сотрудников двух птицефабрик Ленинградской области (Н. И. Лещинская и другие).

Только Х. Морган у жителей Мозамбика и Танганьики в Африке находил в отдельных случаях антитела к птичьему вирусу.

Вопрос о возможности заражения человека опухолеродным онкорнавирусом животного происхождения продолжает изучаться учеными во всех странах мира.

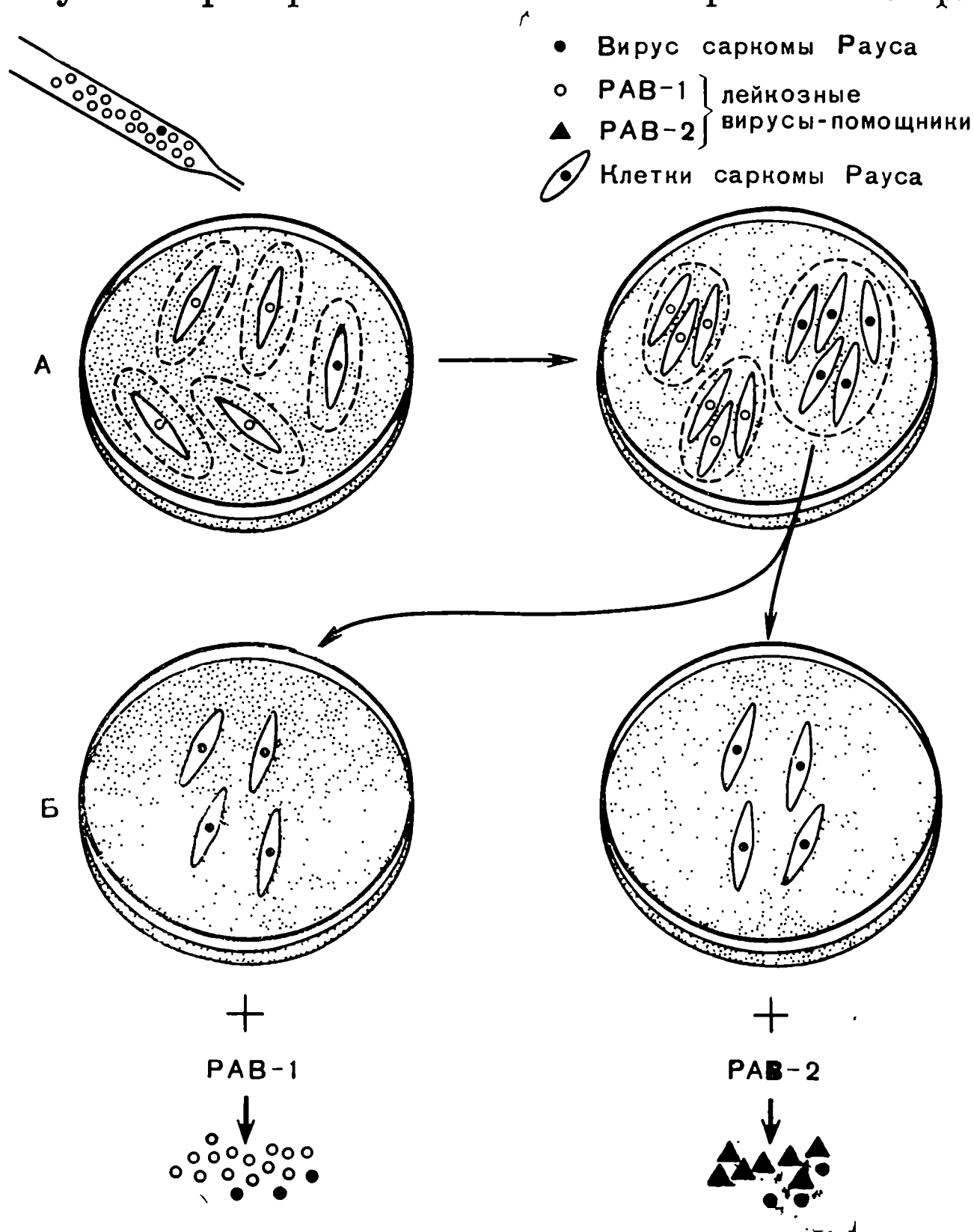
Это тот случай, когда отрицательные результаты будут приняты как положительные. Не очень-то приятно думать, что животные могут «наградить» человека раком.

ВИРУС-ПОМОЩНИК

Случается, что в опухоли, заведомо вызванной саркоматозным вирусом, не удастся обнаружить вирусных частиц. Первоначально такие «безвирусные» опухоли были найдены у кур с саркомой Рауса. Они не прививались фильтрами (их называли, как уже говорилось «нефильтруемыми»). В эксперименте подобные опухоли возникали у птиц при введении очень малых доз вируса Рауса. Возникло предположение, что в этом случае опухоль содержит неполные или дефектные вирусы, которые не могут обеспечить формирование оболочек для потомства и, следовательно, не в состоянии размножаться.

Разные штаммы одного и того же вируса могут в этом отношении отличаться. Это свойство связано с их наследственными особенностями. Например, штамм Карр — Зильбера вируса саркомы Рауса полноценен, а штамм Бриана — неспособен в достаточной степени направить синтез белков вирусной оболочки и дать потомство инфекционных частиц.

В некоторых случаях вместе с саркоматозным вирусом в клетках обнаруживался и другой вирус, который выполнял за него эту функцию. Его называли *вирусом-помощником*. Он оказался не чем иным, как лейкозным вирусом птиц. Выяснилось, что все птичьи лейкозные вирусы могут выступать в роли вирусов-помощников. Стоит лишь добавить их к «нефильтруемым» саркомам птиц, и начинается образование частиц саркоматозного вируса. При этом опухоль приобретает способность перевиваться филь-



Влияние вируса-помощника на размножение вируса Рауса

А — чашки Петри с делящимися клетками; клетки с черной точкой в центре трансформированы вирусом Рауса и делятся особенно быстро.

Б — клетки саркомы Рауса, не продуцирующие вирус. При добавлении вирусов-помощников — PAB-1 и PAB-2 начинается продукция частиц вируса саркомы Рауса (по С. Лурия и Дж. Дарнеллу)

тратом. Из этого следует, что в наследственном аппарате саркоматозного вируса может не хватать генов, обеспечивающих синтез белков оболочек. Тут-то на помощь и приходят лейкозные вирусы.

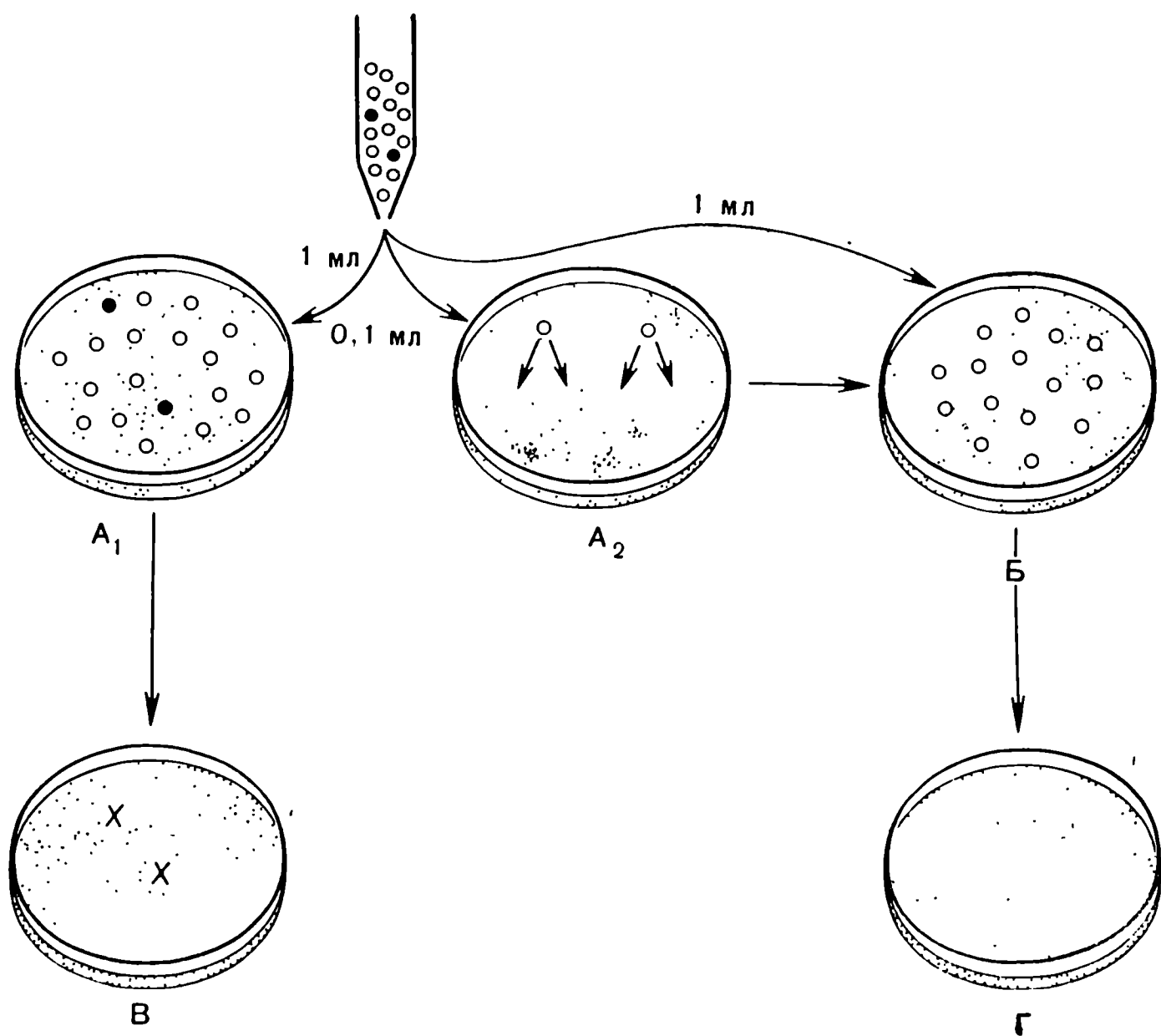
Как уже сказано, отдельные компоненты вируса синтезируются в клетке отдельно, и частицы образуются лишь после их «сборки» воедино. Лейкозный вирус-помощник «заготавливает» в большом количестве белки вирусной оболочки, которые использует для себя и саркоматозный вирус. Его нуклеиновая кислота соединяется с белками помощника, и зрелые инфекционные частицы отпочковываются от клеточной мембраны.

Однако вирус-помощник может сыграть и другую роль. Каждый вирус в зависимости от свойств его оболочки адсорбируется на определенных участках клеточной мембраны — рецепторах. Вирус-помощник и использовавший его белки саркоматозный вирус при инфекции устремляются к одним и тем же рецепторам. Поэтому, если сперва инфицировать клетку лейкозным вирусом, то при последующем введении саркоматозный вирус, не найдя свободных рецепторов, попросту не сможет попасть в клетку. Это явление, при котором один вирус препятствует другому инфицировать клетку, получило название *интерференции*⁵⁷. Разумеется, такая конкуренция возможна между теми вирусами, оболочки которых сходны.

Более детальные исследования показали, что, например, все лейкозные вирусы птиц по характеру белков оболочки подразделяются на пять подгрупп. Представители каждой из них могут выполнять функцию вируса-помощника. Саркоматозный вирус будет интерферировать с тем или иным лейкозным вирусом в зависимости от того, кто «помогал» ему в синтезе оболочки. Таким образом, будущая инфекция определяется вирусом, который попал в клетку первым.

Учение о вирусах-помощниках начали разрабатывать американские вирусологи Г. Рубин, Х. Ханафуза, П. Фогт, а затем включились многие другие исследователи. Теперь явление интерференции широко используется для обнаружения в клетках лейкозных агентов. Это — один из путей в поисках и опухолеродных вирусов человека.

⁵⁷ Термин «интерференция» образовался от английского слова «итерфир» — служить препятствием, быть помехой, сталкиваться друг с другом.



Выявление вируса-помощника

Вирусную взвесь ввели в две чашки Петри в количестве 1,0 мл (A_1) и 0,1 мл (A_2). В чашку A_1 попали оба вируса, и под действием вируса Рауса произошла трансформация клеток (помечены крестиками). В чашку A_2 попал только вирус-помощник РАВ. Сам он трансформации клеток не вызывает, и поэтому культура не изменилась внешне, но клетки приобрели устойчивость к заражению вирусом Рауса. По этому свойству удастся выявить наличие инфекции вирусом-помощником. Если в такую культуру ввести большое количество вирусной взвеси, обеспечивающее попадание вируса Рауса (чашка Б), то трансформация не произойдет, так как предварительная инфекция клеток вирусом-помощником препятствует заражению их вирусом Рауса (по С. Лурия и Дж. Дарнеллу)

Исследования вирусов-помощников оказались тесно связанными с другой важной проблемой.

Выше уже говорилось о том, что в двух советских лабораториях, руководимых Л. А. Зильбером и Г. Я. Свет-Молдавским, было сделано открытие чрезвычайной важности: выявлена способность вируса куриной саркомы поражать крыс. Ранее считалось, что вирус Рауса вызывает опухоли только у птиц. Открытие советских ученых опро-



**ГЕОРГИЙ ЯКОВЛЕВИЧ СВЕТ-
МОЛДАВСКИЙ**



ХИДЕСАБУРО ХАНАФУЗА

кидывало старые представления об узкой видовой специфичности опухолеродных вирусов.

Крысы, однако, были значительно менее чувствительны к вирусу, чем куры, и опыты удавались только в тех случаях, когда вирусный материал вводили или крысиным эмбрионам или новорожденным крысятам в первые 48 часов жизни. Позднее чувствительность животных к вирусу резко падала. Да и не все штаммы птичьего вируса вызывали опухоли.

Описанное явление крайне заинтересовало ученых.

Куриный опухолеродный вирус стали испытывать на разных животных. Оказалось, что он вызывает опухоли не только у крыс, но и у других грызунов: мышей, хомяков, морских свиней, кроликов, а также у собак и даже обезьян. Более того, он проявлял свою опухолеродность и у пресмыкающихся. В культуре ткани вирус саркомы Рауса трансформировал клетки грызунов, обезьян и... человека! Это были потрясающие данные. Спектр хозяев опухолеродного куриного вируса включал три клас-

са животных — птиц, млекопитающих и пресмыкающихся! ⁵⁸

Возник вопрос, от чего зависит круг хозяев вируса: от его наследственных задатков или свойств оболочки. Тут-то и пригодились вирусы-помощники.

Вскоре выяснилось, что способность вируса поражать тот или иной вид животного всецело зависит от свойств вирусной оболочки, которая определяет ранние стадии инфекции — адсорбцию и проникновение внутрь клетки. Достаточно было, используя вирусы-помощники, изменить оболочку, например, у вируса Рауса, а это ученые научились делать, и его свойства менялись. Снабжая саркоматозный вирус белками для построения оболочки, лейкозные вирусы-помощники определяли тем самым круг его хозяев. Итак, даже вирусу, чтобы преодолеть видовой барьер, полезно иметь помощника.

КЛЕТКА-ПОМОЩНИК

В опухолях млекопитающих, вызванных вирусом куриной саркомы Рауса, обнаружить вирус не удастся. Эти опухоли не перевиваются бесклеточными филътратами. Но если клетки такой опухоли ввести естественному хозяину — птице, то у нее разовьется опухоль, в которой снова появятся вирусные частицы, и она начнет прививаться филътратом другим птицам.

В культуре клеток млекопитающих, трансформированных вирусом Рауса, вирусных частиц также нет, но его наследственное вещество легко выявить методом слияния с чувствительными к вирусу клетками кур. Нередко частицы вируса Рауса отсутствуют и в трансформированных культурах куриных клеток. Но они неизменно появляются после введения в культуру лейкозного вируса-помощника. Образование частиц удастся вызвать и путем сов-

⁵⁸ В изучении способности разных опухолеродных вирусов поражать животных других видов приняли участие многие советские исследователи: Л. А. Зильбер, И. Н. Крюкова, В. Я. Шевлягин, И. Б. Обух, Т. Д. Моргунова, Г. Я. Свет-Молдавский, А. С. Скоринова, Л. П. Трубчанинова, Л. И. Равкина, Р. А. Кукайн, Л. И. Нагаева, Б. А. Лапин, Ф. И. Аджи-гитов, Л. А. Яковлева и др.

местного культивирования с клетками, содержащими лейкозный вирус-помощник. Разработаны многие другие методы для обнаружения наследственного аппарата опухолеродного вируса в трансформированной клетке при отсутствии вирусных частиц.

Уже упоминалось, что все онкорнавирусы птиц, как лейкозные, так и саркоматозные, имеют сложный антигенный состав, включающий тип- и группоспецифические антигены.

При изучении группоспецифического антигена неожиданно выяснилась поразительная вещь: этот антиген есть у зародышей кур из выводка, где не было заболеваний и, следовательно, инфекции вирусом.

Эти сенсационные данные, полученные в США Р. Догерти и Г. де Стефано, привлекли всеобщее внимание. Вскоре они были подтверждены и в других лабораториях. В чем же тут дело? Многочисленные исследования показали, что в клетках эмбрионов здоровых кур содержатся продукты с вирусной специфичностью.

Каково их происхождение? У незараженных куриных зародышей с помощью электронной микроскопии иногда находили частицы, которые очень походили на типичные С-частицы вируса. Опыты гибридизации нуклеиновых кислот выявили определенную гомологию, сходство в строении ДНК клеток кур и РНК вируса Рауса. Следовательно, в ДНК куриных клеток имелись участки с последовательностью нуклеотидов, присущей вирусной РНК.

При инфекции дефектным вирусом саркомы Рауса такие клетки выполняли функцию помощника. Это дало основание назвать их *клетками-помощниками*, т. е. клетками, содержащими фактор, помогающий размножению вируса. Действие этого фактора находилось под контролем клеточного гена.

Если в клетки кур вводили опухолеродный вирус, потерявший активность под влиянием ультрафиолетовых лучей или ионизирующей радиации, клеточные факторы-помощники также могли выполнить за него некоторые недостающие функции. Поэтому после обнаружения клеточных факторов-помощников ряд прежних данных с инактивированными вирусами потребовал проверки.

Ученые подсчитали, что с вирусной РНК гибридизуется примерно $1/300$ часть ДНК неинфицированной клетки (этого количества генов достаточно для кодирования бел-

ков с молекулярным весом около 50 000). В состав гибрида входит не вся вирусная РНК, а только небольшая ее доля (2—5% или 1500 нуклеотидов). Таким образом, наследственное вещество вируса представлено в хромосоме нормальной клетки частично.

Сначала ученые предположили, что в ней отсутствует информация на обратную транскриптазу, поэтому для репликации фактора-помощника необходима инфекция опухолеродным вирусом. Однако сейчас установлено, что скрытый в клетке фактор-помощник может начать продуцировать вирус под воздействием химических и физических канцерогенов.

Он обладает характерной для всех опухолеродных агентов структурой и плавучей плотностью, большой молекулой РНК и обратной транскриптазой. Выполняя функцию помощника, он, однако, не трансформирует клетки, подобно вирусу Рауса. В некоторых куриных эмбриональных клетках фактор-помощник активируется без всяких внешних воздействий.

В ряде исследований выявлено, что количество участков с одинаковой последовательностью нуклеотидов разнится в нормальных и трансформированных клетках, у низкоракковых и высокоракковых животных. Их значительно больше у высокоракковых животных и при трансформации. Эти данные нуждаются в дальнейшей разработке. Но так или иначе, факт гомологии вируса и клетки естественного хозяина признан бесспорным.

Что же означает наличие в наследственном аппарате клетки участков, гомологичных с вирусным наследственным веществом? Какую они играют роль? На этот счет высказано много предположений:

Первое: гомологичные участки — это нормальные компоненты наследственного аппарата клетки, участвующие в ее делении и дифференциации.

Второе: они отражают особенности эволюционного происхождения онкорнавирусов, но не связаны с их опухолеродным действием.

Третье: гомологичные участки клеточной ДНК играют активную роль в размножении вируса, в репликации его наследственного вещества.

Четвертое: проявлением активности гомологичных участков может быть опухолевое превращение клетки и образование вирусных частиц.



**НИКОЛАЙ ПЕТРОВИЧ МАЗУ-
РЕНКО**



ШАРЛОТТА ФРЕНД

Последнее из этих предположений легло в основу популярной и интенсивно разрабатываемой в настоящее время теории онкогенов, сформулированной двумя видными американскими исследователями — Р. Хьюбнером и Г. Тодаро, на которой мы подробнее остановимся ниже.

Но прежде чем перейти к изложению теории, мы приведем некоторые дополнительные сведения об онкорнавирусах отдельных видов животных.

Лейкозные и саркоматозные вирусы, во многом аналогичные птичьим, обнаружены у мышей, крыс, хомяков и кошек. У мышей открыто особенно много вирусов, названных по фамилии ученых: вирусы лейкоза Гросса, Молони, Граффи, Френд, Раушера, Каплана, Мазуренко; вирусы саркомы Молони, Гарвей! РНК-содержащие трансформирующие агенты выделены у змей, низших и человекообразных обезьян и, наконец, у человека. Вирусные частицы С-типа, подобные онкорнавирусам, найдены у крупного рогатого скота и свиней, у морских свинок и собак. Сейчас мы знаем много десятков опухолеродных вирусов, чем-то напоминающих друг друга и вместе с тем различных. Например, все вирусы мышинного лейкоза и сар-

комы имеют общий группоспецифический антиген, но отличаются по характеру вызываемых ими болезненных процессов, по типоспецифическим антигенам и другим свойствам.

У грызунов — мышей, крыс и хомяков — их лейкозные вирусы могут служить «помощниками» для саркоматозных, которые без них не размножаются. Вместе с тем вирусы саркомы грызунов не нуждаются в помощниках для трансформации клеток. Следовательно, гены онкорнавируса, ответственные за синтез белков оболочки и за трансформацию, различны. Дефект одного гена не влияет на другой. Саркоматозные вирусы, не способные самостоятельно обеспечить формирование частиц, пожалуй, обладают наибольшей опухолеродностью.

У каждого вида животного обнаружены свои саркоматозные и лейкозные агенты.

Лейкозные вирусы-помощники конкурируют с саркоматозными вирусами за клеточные рецепторы в момент инфекции клетки. Позднее они ведут себя значительно дружелюбнее и снабжают своих «неполноценных» родственников заготовленными в избытке вирусными белками. Строя из них свою оболочку, саркоматозные вирусы приобретают способность поражать всех тех животных, в клетках которых размножается вирус-помощник.

Вначале предполагалось, что вирус-помощник обязательно должен быть того же вида, что и дефектный саркоматозный. Но в дальнейшем выяснилось, что это не совсем так. При инфекции животного другого вида саркоматозным вирусом функцию помощника может осуществлять лейкозный вирус, свойственный виду инфицируемого животного. При этом саркоматозный вирус изменяет круг своих хозяев. Такие взаимоотношения обнаружены у опухолеродных вирусов грызунов.

Вирусы мышей, крыс, хомяков, отличаясь по внутривидовому группоспецифическому антигену (мышиный, крысиный, хомяковый), разделяют один общий им всем межвидовой группоспецифический антиген. Оба эти антигена расположены внутри вируса, способность же его поражать клетки разных видов определяется поверхностным типоспецифическим антигеном. Те из вирусов, которые не могут сами «одеть» себя и занимают «одежки» (а вместе с ними и этот антиген) у фактора- или вируса-помощника, тем самым определяют линию своего по-

ведения: отношение к клеткам животных разных видов.

Кажется мелочь: сменил только наряд, а последствия оказываются серьезными.

ОПУХОЛЕРОДНЫЕ ВИРУСЫ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Обнаружение возбудителей лейкоза и саркомы кур и мышей натолкнуло на поиски аналогичных агентов у других животных, в том числе домашних. Кошки и собаки, крупный рогатый скот, овцы и свиньи — все подвержены злокачественным опухолям. Какова их природа? Не вызывают ли их тоже вирусы? И если да, то как они распространяются, не опасны ли они для человека?

Исследования в этой области были начаты давно, но лишь в последние годы увенчались значительными успехами. Главным образом это относится к лейкозам кошек, в частности — лимфосаркоме.

В 1964 г. английский ученый О. Жаррет успешно перевил лимфосаркому от больной кошки четверем только что родившимся котят, используя экстракт опухоли, из которого на центрифуге удалил все клетки. Явные признаки заболевания начали появляться на шестом месяце. Типичные лимфосаркомы развились у всех четырех подопытных животных. Из этих опухолей ученый снова получил бесклеточный центрифугированный экстракт и привил его здоровым кошкам. Продолжая эти опыты и регулярно получая положительные результаты, Жаррет стремился доказать вирусную природу заболевания.

Аналогичные наблюдения были сделаны и в других лабораториях. Американский ученый К. Ричард исследовал лимфосаркому сиамского кота. Он также освобождал экстракт опухоли от клеток путем центрифугирования и вводил его новорожденным котят. Через два месяца после прививки лимфосаркому зарегистрировали у 56 из 68 привитых котят. В электронный микроскоп в опухолях видны были частицы типа С, в точности походившие на лейкозные и саркоматозные вирусы птиц и мышей по размерам, форме, структуре и особенностям созревания на клеточной мембране.

В 1967 г. в Калифорнии Т. Каваками выделил вирус из лимфосаркомы персидского кота. В дальнейшем для культивирования вируса стали широко использовать культуры эмбриональных клеток и клеток новорожденных котят. И в тех и в других образующиеся вирусные частицы переходили в питательную среду. Размножение вируса происходило длительно: по меньшей мере в течение семи месяцев после инфекции. Клетки при этом не повреждались, так же как при культивировании многих других лейкозных агентов.

Вирус лейкоза кошек был выделен в чистом виде. По своему химическому составу, физическим свойствам, устойчивости к химическим и физическим воздействиям и антигенной структуре он не отличался принципиально от возбудителей лейкоза птиц и мышей. Вирус лейкоза кошек содержал наряду с другими ферментами обратную транскриптазу. Хотя она и обладала специфическими особенностями, но вместе с тем была родственна аналогичным ферментам вирусов лейкозов грызунов и вступала с ними в перекрестные реакции иммунитета.

Межвидовой группоспецифический антиген вируса лейкоза кошек и других млекопитающих (мышей, крыс и хомяков) оказался общим. Он содержал также компонент, общий с вирусами лейкозов птиц. Это был первый случай обнаружения антигенного родства между опухолеродными вирусами птиц и млекопитающих.

Чтобы определить круг хозяев нового опухолеродного агента, были сделаны попытки заразить им новорожденных мышей. Но они не увенчались успехом (введение новорожденным котятм вируса мышинного лейкоза также не приводит к развитию опухолей). Нечувствительными к кошачьему вирусу оказались и крысы. Он не размножался и в культуре клеток мышей и крыс. Казалось, что вирус видоспецифичен. Но это предположение скоро рассеялось. В опыт были взяты клетки эмбрионов собак, и в них кошачий вирус успешно культивировался, а при введении новорожденным щенкам регулярно вызывал лимфосаркомы. Из последних снова удавалось выделить вирус лейкоза кошек.

Итак, кошачий лейкозный вирус мог поражать животное другого вида. Его стали испытывать на разных животных, а затем и на культурах клеток человека. Выяс-

нилось, что он и тут хорошо размножается. Это привлекло к нему всеобщее внимание.

Вскоре были получены новые интересные данные. Хотя вирус первоначально выделили от природных случаев, не все лимфосаркомы кошек содержат его. Для того чтобы вызвать у кошки лимфосаркому, вирус надо вводить новорожденным однодневным котяткам, позднее опухоли не возникают. Но у зараженных взрослых кошек тоже наблюдается размножение вируса, и они передают его своему потомству. Кроме «вертикального» способа распространения вирус лейкоза кошек выделяется во внешнюю среду со слюной. По последним данным У. Харди, «горизонтальная» передача вируса имеет немаловажное значение.

Все эти наблюдения стимулировали дальнейшие исследования.

В 1968 г. два американских ученых С. Снайдер и Г. Тэйлен сообщили об открытии кошачьего саркоматозного вируса. А годом позднее М. Гарднер описал у кошек еще один вирус саркомы. Оба эти вируса получили названия по фамилии ученых: вирус Снайтера и Тэйлена и вирус Гарднера. Саркоматозные агенты имели широкий круг хозяев и вызывали злокачественные опухоли не только у кошек и собак, но и у обезьян мартышек, а вирус Снайтера и Тэйлена еще и у кроликов. Саркоматозные вирусы не поражали клетки мышей и хомячков, но трансформировали клетки нескольких видов других млекопитающих и человека.

Интересно, что в первичных опухолях обезьян, вызванных вирусом саркомы кошек, вирусные частицы обнаружить не удастся. Но стоит ввести опухолевые клетки в культуру или перевить другим обезьянам, и вирус появляется снова. Этим он весьма отличается от вируса куриной саркомы Рауса, который не размножается в клетках обезьян и дает потомство только при совместном культивировании обезьяньих клеток с куриными.

При инфицировании клеток человека кошачьим саркоматозным вирусом результаты наблюдаются разные: иногда трансформация без размножения вируса, в других случаях — только трансформация или только размножение. Причина таких различий требовала объяснения. При одновременном заражении человеческих клеток саркоматозным и лейкозным кошачьими вирусами, как правило,

имела место трансформация и образование вирусного потомства.

Вирус лейкоза кошек выполняет функцию помощника по отношению к саркоматозному кошачьему вирусу. Весьма вероятно, что различное действие кошачьего саркоматозного вируса на клетки человека зависит от того, находит ли он в них помощника. Но как его обнаружить в человеческих клетках?

На помощь пришли исследования с дефектным вирусом саркомы мышей, не размножающимся в клетках человека. При совместном культивировании двух видов клеток — трансформированных вирусом саркомы мышей и инфицированных вирусом лейкоза кошек — начинается размножение мышино-саркоматозного вируса. Кошачий лейкозный агент выполняет при этом функцию помощника, снабжая мышиный вирус необходимыми белками для построения оболочки. Мышиный саркоматозный вирус с оболочкой, «подготовленной» кошачьим вирусом, приобретает тот же круг хозяев, что и вирус лейкоза кошек. Он трансформирует клетки собак, обезьян и человека, но не может обеспечить себя белками для образования нового поколения частиц. Поэтому для его размножения необходим вирус-помощник.

Как только были установлены эти данные, возникла мысль использовать мышиный саркоматозный вирус с оболочкой, кодированной кошачьим лейкозным вирусом, для поисков лейкозных агентов в человеческих опухолях. Об их присутствии свидетельствовало бы размножение дефектного мышино-кошачьего варианта опухолеродного вируса. Подобные исследования проводятся сейчас в нескольких лабораториях.

На функционирование саркоматозного кошачьего вируса также существенное влияние оказывает вирус-помощник. В естественно возникших саркомах кошек вирусные частицы обнаруживаются относительно редко, и в экспериментальных опухолях они выявляются с большим трудом.

Вообще саркома не частое заболевание у кошек. Чтобы вызвать у них саркоматозную опухоль, надо ввести очень большое количество вируса, которое в естественных условиях обычно не попадает в организм животного. У кошек вирус саркомы в отличие от вируса лейкоза передается только «вертикально» — от одного поколения

другому. Контактная передача заболевания мало вероятна.

Однако большое количество частиц вируса в слюне лейкозных кошек и его способность размножаться в человеческих клетках и активировать скрытые вирусы, а также ряд особенностей взаимоотношений людей и кошек — близкий контакт, царапины — побудили провести эпидемиологические исследования.

Действительно ли существует связь между опухолями кошек и человека? В литературе появлялись отдельные сообщения о заболевании лейкозом людей и кошек в одном и том же доме. Однако тщательный анализ таких случаев не подтвердил предположения о связи между ними. Отрицательные результаты дал и анализ причин смертности ветеринаров в Калифорнии, практикующих на кошках и собаках. По-видимому, врачи подвергаются не большему риску заболевания, чем остальное население.

Исключают ли эти данные возможность активации кошачьими вирусами опухолеродного агента, который скрыт в организме человека? Можем ли мы быть твердо уверены, что они не вредны нам? Эти вопросы остаются пока открытыми. Поиски опухолеродных вирусов у собак не дали пока определенных результатов.

Большой интерес представляют исследования лейкоза крупного рогатого скота, у которого лейкемия и особенно лимфосаркома — наиболее частые опухолевые заболевания. По многим особенностям они сходны с лейкозами птиц, грызунов, кошек, лошадей и человека. Самые яркие проявления заболевания — значительное увеличение лимфатических узлов, селезенки, печени и вилочковой железы. Очень часто злокачественные лимфоидные клетки наводняют ткань сердца.

Лейкоз скота весьма распространен в Швеции, Дании, Германии и многих других странах. Наибольший интерес представляет очаговость в распространении заболевания.

В Дании, где крупного рогатого скота насчитывается около 3,5 млн. голов, в среднем по стране лимфосаркомой поражено 4 из 100 тысяч коров, но в отдельных районах больных животных почти в четыре раза больше: на каждые 100 тысяч коров приходится до 15 больных.

Резкое увеличение лейкозов скота в 1960—1964 гг. в Эстонии связывают с импортом быков-производителей из Дании.

Особое внимание привлекают многочисленные «семей-

ные» случаи заболевания. Институт Роберта Коха в Берлине описывает (И. Фортнер, 1953) 11 случаев лейкоза среди 50 потомков быка под кличкой Эмиль. В США (1963) в одном стаде из 15 зарегистрированных случаев лимфосаркомы у джерсийских коров 14 приходились на потомков быка «Н». В Восточной Пруссии в 1937 г. из 20 лейкозных коров, обнаруженных в стаде, 16 были потомками быка «У», который в возрасте 4 лет погиб от лейкоза (Гросс, 1970). Установлено, что удаление из стада подозреваемого на распространение лейкоза быка-производителя пресекает дальнейшее возникновение заболеваний.

Имеются данные и о передаче лимфосаркомы по материнской линии. Объяснить это только наследственным предрасположением, передачей какого-либо гена не удастся.

Естественно, возникло предположение, не происходит ли «вертикальная» передача опухолеродного вируса? Это побудило к интенсивным исследованиям и в первую очередь попыткам выделить вирус при заболевании. Перевивки кровью, молоком, мочой, бесклеточными экстрактами и фильтрами из опухолевой ткани не дали убедительных результатов, хотя в опытах использовали новорожденных телят и даже делали внутриутробные инъекции плодам. Опыты усложнялись и тем, что скрытый период развития заболевания может растянуться у коров на несколько лет. В естественных условиях лимфосаркомы появляются обычно в возрасте 5—7 лет. В этом отношении у мелких млекопитающих все значительно проще — срок их жизни меньше и соответственно короче скрытый период естественно развивающегося опухолевого заболевания.

Для выяснения роли вируса при лейкозе скота была использована и электронная микроскопия. В опухолевых тканях и молоке коров обнаружили вирусоподобные частицы, но доказать их причинную связь с заболеванием не удалось. К тому же они встречались и в молоке здоровых коров.

В самое последнее время американский ученый Дж. Феррер с сотрудниками описал частицы типа С в клеточной линии, ведущей свое происхождение от лимфоцитов лейкозного скота. Они имеют все характерные признаки онкорнавирусов, а по своим антигенным свойствам отличаются от вирусов мышей, крыс и кошек. Об-

щего группоспецифического антигена с этими вирусами не найдено.

В крови лейкозных коров обнаружены антитела к вирусу. У здоровых коров из стада, где случаев лейкозов не наблюдалось, таких антител не было. Неудачи с выделением вируса непосредственно от больных животных объясняют действием противовирусных антител. Даже кратковременное культивирование лейкозных клеток, сопровождающееся снижением концентрации антител, обеспечивает условия для размножения вируса.

Группа советских исследователей (А. Д. Альтштейн, С. Ф. Герасина, Л. Г. Захарова, М. В. Севастьянова, В. П. Карелин, Е. Н. Арбин, А. Ф. Быковский, Г. Г. Миллер, В. М. Жданов) обнаружили РНК-содержащий вирус в перевиваемых клетках почки эмбриона свиньи. Вирус содержал РНК с коэффициентом осаждения 60S, частицы имели плотность 1,16 г/мл, содержали обратную транскриптазу и по своей структуре и размерам соответствовали онкорнавирусу типа С. Поскольку культуры клеток могут загрязняться другими вирусами, с которыми проводится работа в лаборатории или которые находятся в питательных средах, ученые сейчас всесторонне изучают антигенные свойства вируса. Только после этого можно будет установить его истинное происхождение.

Частицы типа С обнаружены и в почечных клетках больных лейкозом свиней. У крупного рогатого скота и у свиней выявлена роль наследственного фактора в передаче заболеваний. Окончательных доказательств роли вируса в развитии у них лейкоза еще нет.

Итак, у домашних животных обнаружены опухолеродные вирусы. И хотя наши знания о них крайне недостаточны, невольно задумываешься, не могут ли враги наших друзей стать и нашими врагами.

ВИРУСНЫЕ ОПУХОЛИ У ОБЕЗЬЯН

С тех пор как люди узнали тайну своего происхождения, они стали с особым интересом относиться к обезьянам. Много раз в истории медицины обезьяны выручали исследователей при решении сложных вопросов. Для изучения одной из важнейших проблем человечества — при-

роды рака — также используют обезьян в качестве экспериментальной модели.

Обезьяны, как и люди, страдают многими видами злокачественных опухолей. Каково их происхождение? Почему они возникают? Выяснение этих вопросов, казалось, поможет разгадать природу рака человека.

В эксперименте два онкорнавируса — саркомы птиц и саркомы кошек — приводят к опухолевым превращениям обезьяньих клеток не только в культуре ткани, но и при введении их в организм. ДНК-содержащие вирусы самих обезьян (ОВ40 и аденовирусы) вызывают опухоли у других видов животных, но не у своих естественных хозяев. В отличие от них вирус герпеса обезьян саймири и трансформирует клетки обезьян в культуре ткани и вызывает злокачественные опухоли при введении животным.

Однако в опытах с вирусом герпеса саймири речь шла об экспериментально вызванных опухолях у обезьян. А как обстоит дело с опухолями, возникающими в природных условиях?

В 1967 г. советские ученые столкнулись с необычным явлением. В Сухумском обезьяньем питомнике в стаде павианов гамадрилов стали появляться случаи лейкоза. К концу года они приняли характер вспышки, которая продолжается до сих пор. Необходимо было разобраться, в чем причина. Стадо павианов гамадрилов существовало с 1927 г. и до 1966 г. находилось в благополучном состоянии. Почти за 40 лет у обезьян не наблюдали ни одного случая лейкоза. В 1966 г. на павианах гамадрилах поставили опыт с человеческой лейкозной кровью: три подопытных животных заболели лейкозом, 10 обезьян возвратили в стадо без признаков заболевания. С конца 1967 г. до марта 1972 г. в этом стаде погибло от лейкоза 30 обезьян. Из них 18 находились в прямом контакте с зараженными в 1966 г. обезьянами, а 12 — в непрямом. Погибшие от лейкоза обезьяны происходили от 9 разных семейств (одну привезли непосредственно с места естественного обитания). В то же время у 75 павианов, содержавшихся в полной изоляции, лейкозы не наблюдались. Не были отмечены заболевания и у 1000 обезьян других видов, находившихся в питомнике. Все это создавало впечатление «горизонтальной» передачи инфекционного агента.

Под руководством Бориса Аркадьевича Лапина были проведены всесторонние исследования. Обратило на себя внимание возрастное распределение заболеваний. Во время вспышки в питомнике находилось более 1200 павианов. Большинство из них — 60—65%, были не старше четырех лет. Но именно из этих обезьян ни одна не заболела. Все случаи приходились на старших половозрелых животных. По наблюдениям исследователей, скрытый период заболевания длился от нескольких месяцев до 2—3 лет.

От больных животных удавались перевивки клеточным материалом, и это подтверждало его опухолевую природу. Следовало выяснить, не играет ли здесь роль вирус. Введение фильтрата плазмы крови и мочи действительно приводило к лейкозоподобному заболеванию у части привитых обезьян. Моча оказалась инфекционной даже и для бурых макак. Более того, при экспериментальном введении фильтратов заболевали обезьяны и в возрасте до четырех лет. Инкубационный период при перевивке не превышал полутора лет. Агент, находившийся в фильтрате, по всей видимости, был видоспецифичен. Во всяком случае мыши и хомяки не заболевали после прививки.

В лейкоцитах больных обезьян обнаружили частицы типа С, а на их внешней оболочке — новый антиген с вирусной специфичностью.

Исследования, о которых мы рассказываем, продолжаются. Б. А. Лапин и его сотрудники предполагают, что латентный вирус павианов гамадрилов активировался при введении им свежей крови больных лейкозом людей. Однако полностью исключить возможную роль гипотетического вируса лейкоза человека они, естественно, не могут.

Многое в этих наблюдениях допускает разную трактовку и остается нерешенным. Действительно ли происходит контактная, а не «вертикальная» передача, столь свойственная опухолеродным вирусам? Правильно ли отсчитывать скрытый период развития заболевания от момента контакта? Возможно, он составляет не 1—2 года, а все 5—12 лет от рождения до заболевания.

Что может попасть в организм обезьяны с кровью больного лейкозом человека. Неспецифические белки? Вирус лейкоза человека? Вирус-помощник, находящийся в организме в неактивном состоянии, но активирующий «спящий» лейкозный обезьяний агент?

В Америке из природных опухолей обезьян выделены два онкорнавируса с частицами типа С. Один — из лимфомы гиббона, другой — из подкожной саркомы шерстистой обезьяны. Бесклеточные препараты из лимфомы и саркомы вызывают опухоли при введении обезьянам мармосет. Оба вируса могут выполнять функцию «помощника» для лейкозных вирусов грызунов: мышей, крыс и хомяков. Они совершенно сходны между собой по свойствам группоспецифического антигена. Вирус подкожной саркомы шерстистой обезьяны размножается в культуре эмбриональных клеток собак и разрушает их. Это выдает присутствие вируса.

Совсем недавно, в 1970 г., из рака груди обезьяны выделили новый онкорнавирус, получивший название вируса Мазона — Пфайзера. Два исследователя — Х. Чопра и Г. Мазон культивировали клетки этой опухоли вместе с нормальными эмбриональными обезьяньими клетками. После такой процедуры бесклеточный препарат из культуры стал вызывать у обезьян злокачественные опухоли. Содержащийся в нем вирус отличался от всех ранее известных у обезьян. Он размножался в клетках шимпанзе и человека, приводя к образованию многоядерных форм. Клетки хомяков и мышей были нечувствительны к обезьяньему вирусу.

Вирус Мазона — Пфайзера по всем своим основным свойствам (наличию крупной однонитчатой РНК с коэффициентом осаждения 60—70S, размеру, форме, строению и плотности частиц, антигенной структуре, способу размножения) сходен с другими онкорнавирусами млекопитающих. В состав его группоспецифического антигенного комплекса входит видоспецифический (обезьяний) антиген и межвидовой, общий с группоспецифическими антигенами онкорнавирусов мышей, крыс, хомяков и кошек.

Обезьяний вирус содержит комплекс ферментов, необходимый для включения его генома в наследственный аппарат клетки. Но его обратная транскриптаза совершенно отлична от аналогичных ферментов онкорнавирусов мелких млекопитающих и в реакциях иммунитета не проявляет никакого родства с ними. Антисыворотка к обратной транскриптазе любого из опухолеродных вирусов грызунов и кошек перекрестно реагирует с ферментом этих вирусов, но не с обезьяньим. Если в качестве

антигена для приготовления антисыворотки используется фермент вируса Мазона — Пфайзера, то такая сыворотка реагирует только с обратной транскриптазой обезьяньего вируса, но не вступает в реакцию с ферментами опухолеродных вирусов грызунов и кошек. Специфичность фермента сохраняется и после длительного культивирования агента в клетках обезьян. Таким образом, обезьяний опухолеродный вирус можно отличить по специфическим свойствам его обратной транскриптазы от всех других опухолеродных вирусов мелких млекопитающих.

Есть у этого вируса еще одна характерная особенность: он очень неустойчив. Его нуклеокапсид легко раскручивается, усиливает давление на оболочку частицы и та разрушается. Онкорнавирусы грызунов и кошек значительно устойчивее.

В результате всех этих исследований возник вопрос: не имеет ли обезьяний вирус связи с злокачественными опухолями человека. Однако в сыворотках раковых больных антитела к вирусу Мазона — Пфайзера не обнаруживались. Экстракты из раковых, саркоматозных и нормальных тканей человека не реагировали с иммунной сывороткой против обезьяньего вируса.

Тем не менее открытие вируса Мазона — Пфайзера стимулировало поиски родственного опухолеродного агента у человека. Кроме того, пришлось подумать, не подвергаются ли опасности те, кто работает с культурами обезьяньих клеток.

ВИРУСЫ И РАК ЧЕЛОВЕКА

Многовековые наблюдения привели врачей к единодушному заключению: рак человека не заразен. Он не передается от больного окружающим его людям. Рак — явление случайное. Вместе с тем твердо установлено, что есть ряд факторов, влияющих на возникновение болезни. Встречается профессиональный рак, связанный с той или иной вредностью, и бытовой рак, обусловленный определенными привычками, обычаями, обрядами. Описаны «раковые дома», где особенно много случаев заболеваний. Известно также, что особому риску подвергаются люди,

живущие вблизи химических заводов и других вредных предприятий, выделяющих во внешнюю среду канцерогенные химические вещества⁵⁹. Выявлена роль ионизирующей радиации в развитии злокачественных опухолей.

Из числа факторов нельзя исключить и вирусы. Ведь некоторые опухолеродные вирусы животных в эксперименте размножались в культуре человеческих клеток и даже трансформировали их.

Однако широкопоставленные эпидемиологические исследования не выявили, что в естественных условиях вирусы животных представляют какую-либо реальную опасность для человека.

Исследователи столкнулись также с фактами так называемого семейного рака.

Некоторые из них просто поразительны. Так, в 1866—1869 гг. французский врач П. Брока описал семью, в которой от рака погибла мать, ее четыре дочери и восемь их детей. В 1898 г. английский врач У. Уильямс привел данные о больной, страдавшей раком матки. Ее две сестры, мать, тетя и бабушка со стороны матери — все погибли от рака матки.

Еще более удивительно наблюдение врача Г. Кирквуда. У его больной с раком правой груди умерли также от рака груди отец (рак груди у мужчин большая редкость) и четыре сестры. Один брат погиб от рака глотки; другой — от рака в области левой руки. Американский врач Г. Грэхем описал семью, в которой от рака прямой кишки умерли мать, четыре дочери и сын. Американский врач Ф. Хейнцельман собрал данные о заболеваемости в пяти поколениях семьи своего пациента: 13 ее членов погибли от рака, причем 10 из них от рака толстой кишки.

Профессор И. А. Кассирский дал сводку литературных данных о случаях лейкозов, наблюдавшихся у одно- и двухъяйцевых близнецов, у братьев и сестер, у родителей детей и внуков — хотя вообще лейкоз встречается довольно редко.

Судя по этим и многочисленным другим данным, наследственный фактор, несомненно, играет роль, создавая

⁵⁹ Большой интерес представляют в этом отношении обширные материалы, собранные и детально разработанные советской исследовательницей В. И. Ферштудт.

предрасположенность к заболеванию. Но как ее понимать? Сначала ученые считали, что по наследству передаются определенные гены. Затем заговорили и о передаче из поколения в поколение какого-то вирусного агента. Однако полученные в последнее время данные, кажется, позволяют объединить обе гипотезы. Ведь установлено, что опухолеродные вирусы в организме животных находятся под контролем генов хозяина.

Вирус рака человека, собственно говоря, не обнаружен, хотя его поиски велись и ведутся неустанно во многих научных лабораториях. Что дали эти исследования?

Мы уже останавливались на раннем этапе изучения опухолей человека методом электронной микроскопии, не позволявшим выяснить структуру частиц, место и способ формирования их в клетке. Разнобой в результатах, полученных в разных лабораториях, не дал возможности тогда прийти к определенным выводам. Но исследования продолжались. Последние из них привлекли всеобщее внимание.

После того как Леон Дмоховский и его сотрудники описали в раке груди частицы типа В, весьма напоминавшие вирус рака молочных желез мышей по форме, размерам и структуре, в литературе появились и другие наблюдения подобного рода.

Большой резонанс получили работы Д. Мура и Дж. Чарни в Америке. У 60% здоровых женщин, у которых в семье имелись случаи заболевания раком груди, ученые обнаружили в молоке частицы типа В, не отличимые по своему виду и строению от вируса рака молочных желез мышей. Для сравнения исследовали молоко женщин, в семьях которых рака груди не было. Частицы типа В у них выявлялись редко, менее чем в 5% случаев, и притом в значительно меньшем количестве.

В Бомбее у женщин одной из каст рак груди встречается в 2—3 раза чаще, чем у остальных, составляя половину всех злокачественных опухолей. Люди этой касты эмигрировали в Индию из Персии 1300 лет назад, и все эти годы вследствие строгих религиозных обычаев жили совершенно обособленно, вступая в браки только между собой. Интересные данные получили при электронно-микроскопическом изучении здоровых женщин этой замкнутой группы. В их молоке частицы типа В встречались в 39% случаев.

В некоторых пробах молока количество частиц типа В было настолько велико, что позволяло провести химическое исследование. Из них выделили большую однонитчатую РНК и обратную транскриптазу, характерную для опухолеродных РНК-содержащих вирусов. Из 13 проб молока фермент был обнаружен в четырех, и именно в этих пробах содержались частицы с плавучей плотностью онкорнавирусов — 1,16 г/мл. В пробах молока, не содержащих подобных частиц, не было и фермента. По всем свойствам выделенный фермент походил на обратную транскриптазу других опухолеродных вирусов.



СОЛ СПИГЕЛЬМАН

Обнаружение обратной транскриптазы в составе частиц хотя и не прямое доказательство их опухолеродности, но важный аргумент в пользу этого. Об этих исследованиях, проведенных под руководством американского ученого Сола Спигельмана, заговорили повсеместно.

Летом 1971 г. Д. Мур и его сотрудники указали на возможность передачи вирусных частиц от матери потомству при вскармливании, подобно тому, как происходит передача вируса рака молочных желез мышей. Основанием для такого вывода послужило то, что сыворотка больных раком груди частично нейтрализовала мышинный опухолеродный вирус. Следовательно, между ним и частицами, выявленными у больных женщин, имелось антигенное родство.

Действительно, не играют ли обнаруженные учеными частицы причинную роль в возникновении рака груди человека?

Интерес к исследованиям рака груди человека в Америке был столь велик, что в октябре 1971 г. в Американской национальной Академии наук состоялась пресс-конференция, специально посвященная этому вопросу. Участниками ее были видные ученые — Роберт Хьюбнер

из Национального ракового института, Сол Спигельман из Ракового научно-исследовательского института Колумбийского университета, Филипп Шубик из университета в Небраске и Маурик Грин с медицинского факультета университета в Сан-Луи.

Отвечая на вопросы журналистов, Спигельман рассказал о работах лаборатории Дана Мура и его собственной по выявлению в молоке женщин вирусных частиц, подобных вирусу рака молочных желез мышей, передающихся от матери потомству. При этом он высказал мнение, что женщины с семейной отягощенностью раком груди, содержащие вирусоподобные частицы в молоке, не должны вскармливать детей.

К Спигельману тотчас обратился один из журналистов: «Это, несомненно, очень хороший совет,— сказал он.— Но где женщина может пройти исследование? Сколько это будет стоить? Сколько женщин может быть обслужено за год?»

Спигельман попытался отшутиться: «Ну, они придут ко мне. Мы это сделаем бесплатно. К сожалению, этот анализ не тривиален и не может быть проведен в обычной клинической лаборатории».

«А эти частицы в самом деле вирусы?» — задал ему вопрос тот же журналист.

«Они не отличимы от других частиц, которые мы называем вирусами». В зале послышался смех, и Спигельман поспешил добавить: «Это предосторожность, вы можете назвать их как вам хочется».

«Будет ли ваша общая рекомендация по этому вопросу означать, что ни одна женщина не должна вскармливать ребенка в течение периода, пока вы..?»

«Нет, конечно, нет,— перебил журналиста Спигельман.— Понимаете, если бы моя сестра была из семьи, где имелись случаи рака груди, и у нее обнаружили бы вирусные частицы, я бы советовал ей не вскармливать ребенка».

«Доктор Спигельман,— снова включился в разговор журналист,— материалы, которые мы представим для публикации, распространяются среди многих миллионов. Вы просите нас рекомендовать женщине не кормить самой ребенка и провести исследование, которое недоступно...»

«Нет, я не говорил, чтобы вы советовали им...»

В этот разговор, принимавший не очень приятный оборот, вмешался профессор Хюбнер: «Давайте переведем его на несколько иной путь. Дело вот в чем: имеются данные, что вирус типа В действительно вызывает рак груди весьма специфическим образом у мышей и что это находится под генетическим контролем, поэтому у некоторых мышей он развивается, у других — нет. И в лаборатории мы знаем, у каких линий мышей он развивается, а у каких рака не будет и, конечно, мы можем посоветовать этим мышам не вскармливать их бэби...»

Эти слова вызвали общий смех. «Проблема заключается в том,— сказал Хюбнер далее,— чтобы доказать, что вирус, выделенный у человека, действительно ответствен за возникновение рака. Поэтому сейчас нельзя дать женщине никаких рекомендаций».

Спигельман присоединился к словам своего коллеги и тоже подтвердил, что причинная роль вируса при раке груди еще не доказана.

Прошло не более пяти месяцев после этой пресс-конференции, и лаборатория Мура опубликовала новое сообщение. Разработав более подробную классификацию частиц и значительно расширив объем исследований, ученые пришли к совершенно иным выводам. Частицы типа В, подобные вирусу рака молочных желез мышей (названные MS-1), которым ранее придавалось главное значение, были обнаружены лишь в 3% образцов, причем как в опытной, так и в контрольной группе. Частицы, которые походили на дегенерированные формы частиц типа В (названные ими MS-2), были найдены у 15% женщин с семейным раком груди и у 8,5% женщин — без семейной отягощенности. Но эта разница статистически не была доказательной. Наконец, в 35% образцов молока нашли частицы, сходные с частицами типа С онкорнавирусов. Они распределялись поровну в обеих группах.

Окончательный вывод Д. Мура и Н. Саркара был таков: частицы типа В и С широко распространены и встречаются в молоке женщин независимо от случаев заболеваний раком груди в их семьях.

Подробно были изучены особенности частиц С и В в молоке. Первые походили на частицы, выявляемые при раке груди обезьяны. Они имели гладкую поверхность, без выростов. Иногда при

микроскопии встречались и «хвостатые формы». Вторые, наоборот, имели по периферии выросты наподобие гвоздиков. Некоторые из них в точности напоминали вирус рака молочных желез мышей.

В 1972 г. группа исследователей, руководимая Спигельманом, получила новые чрезвычайно важные данные.

Они решили изучить свойства ДНК, которая образуется при действии обратной транскриптазы, выделенной ими из молока женщин. Будет ли эта ДНК давать гибриды с какой-либо РНК, находящейся в ткани грудной железы? Чтобы провести такое исследование, надо было в первую очередь выделить в очищенной форме вирус, который бы служил матрицей для фермента при синтезе комплементарной ДНК. Но то количество частиц из молока женщин, которое потребовалось бы для этих исследований, нельзя было получить. И тогда ученым пришла мысль попытаться использовать с этой целью вирус рака молочных желез мышей. Они исходили из предположения, что РНК человеческого и мышинного вируса достаточно близки, чтобы обеспечить гибридизацию. Из мышинного вируса была выделена РНК, и в присутствии фермента, изолированного из частиц в молоке женщин, получили комплементарную ДНК. Опыты гибридизации были положительны только с РНК из рака груди. Ткань грудной железы нераковых больных не содержала РНК, которая бы образовывала гибриды с ДНК, комплементарной к РНК вируса рака молочных желез мышей. Отрицательный результат был получен и с РНК из нормальных тканей груди, плаценты, печени, кишечника, а также из лейкозных и саркоматозных тканей людей.

Опыты Спигельмана показали, что в большинстве случаев при раке груди клетки человека содержат РНК, родственную с вирусами рака молочных желез мышей. С вирусами лейкоза как мышей, так и птиц эта РНК не выявляла никакого родства.

Эти исследования бесспорно доказывают, что раковая ткань человека содержит наследственную информацию, сходную с той, которая присуща вирусу. Но можно ли на этом основании считать доказанным, что раковая опухоль образовалась в результате действия вируса? Может быть он просто нашел в раковой ткани хорошие условия для существования?

Разумеется, данные Спигельмана чрезвычайно интересны. Но для окончательного утверждения причинной роли вируса при раке груди человека необходимы дополнитель-



ные исследования, и в первую очередь выявление трансформирующей активности частиц при испытании на клеточных культурах и опухолеродной активности в опытах на экспериментальных животных.

* * *

В 1972 г. американский ученый Р. Мак Аллистер с коллегами сообщили о выделении из саркомы человека вируса типа С, отличного от всех ранее известных опухолеродных вирусов.

История этих исследований такова: из клеток опухоли больного — *рабдомиосаркомы* (злокачественная опухоль, происходящая из поперечно-полосатых мышц) получили клеточную культуру. Ни в первичной опухоли, ни в культуре клетки не содержали частицы типа С. Материал из культуры ввели кошачьим зародышам в поздний период развития. У родившихся котят появились множественные саркоматозные узлы. По своему строению они в точности походили на опухоль человека: это были *рабдомиосаркомы*. Поскольку котят первоначально ввели

клетки, это могло быть простой клеточной перевивкой. Действительно, набор хромосом в них точно соответствовал человеческому. Таким образом, опухоли у кошек представляли собой трансплантат человеческой саркомы. Казалось бы, ничего нового. Но когда опухоли исследовали в электронный микроскоп, в них обнаружили частицы вируса типа С. Они имели все свойства онкорнавирусов кошек и грызунов.

Вновь найденный вирус получил название РД114 — по линии клеток, в которых его обнаружили. Был ли это вирус, перешедший из клеток кошки в трансплантат или человеческий? Чтобы ответить на этот вопрос, предприняли многочисленные опыты.

Внутренний межвидовой группоспецифический антиген вируса РД114 был общим с другими онкорнавирусами, а видоспецифический антиген отличался от кошачьего, а также мышинного, крысиного, хомякового, птичьего.

По своему поверхностному антигену и обратной транскриптазе вирус РД114 также отличался от онкорнавирусов кошек. Таким образом, имелись основания думать, что этот вирус не кошачьего, а человеческого происхождения.

Каковы биологические свойства вируса РД114? Он размножается в клетках человека и собаки, инфицирует в культуре клетки зародыша кошки и мыши. Клетки свиньи и рогатого скота не чувствительны к этому вирусу. Попытки трансформировать культуры клеток кошки, собаки, мыши и крысы путем введения вируса РД114 не увенчались успехом.

Хотя многое еще требовалось, чтобы доказать, что вирус РД114 действительно вызывает саркому у человека, его стали рассматривать в качестве кандидата в опухолеродные вирусы человека.

В самое последнее время четыре группы американских ученых, возглавляемые П. Сармой, Дж. Тодаро, Р. Гильденом и Р. Мак Аллистером, получили новые весьма важные результаты, касающиеся вируса РД114, подойдя к выяснению его происхождения с иной стороны.

Из зародышевых клеток кошки был выделен вирус, не родственный другим кошачьим онкорнавирусам. Он отличался от них по свойствам РНК, внутреннего группоспецифического антигена и обратной транскриптазы. Новый вирус не размножался в нормальных и опухолевых клетках кошки и представлял собой передающийся из

поколения в поколение «молчащий», «скрытый» агент. Но оказалось, что он дает потомство в клетках человека и обезьян, а когда его сравнили с вирусом РД114, то обнаружили их полное сходство. Новый агент называли кошачьим РД114-подобным вирусом.

В связи с этими данными, естественно, снова возник вопрос, является ли РД114 истинно человеческим.

Вирус РД114, как выяснили, не проявляет родства с опухолеродными вирусами обезьян. Его не удается активировать в клетках рабдомиосаркомы, непосредственно извлеченной при операции у больного человека. Попытки гибридизации нуклеиновых кислот обнаружили гомологию между вирусом РД114 и ДНК клетки кошки на фоне отсутствия родства с ДНК клетки человека. В общем сейчас можно считать твердо установленным, что вирус РД114, на изучение которого выделили несколько миллионов долларов и возложили столько надежд, всего лишь новый вид кошачьего опухолеродного вируса.

Целый ряд исследований говорит о тесных взаимоотношениях РНК-содержащих агентов человеческого и животного происхождения.

В этом отношении весьма интересны данные Спигельмана и его сотрудников, выявившие, что в саркомах человека находится крупная одонитчатая РНК и что в опытах гибридизации нуклеиновых кислот эта РНК выявляет родство с вирусом саркомы мышей.

По-видимому, способность вируса вызывать опухоли того или иного рода (например, рак и саркому) связана со свойствами его РНК. Этим можно объяснить известную степень родства между РНК из саркомы человека и вируса саркомы мышей, РНК из рака груди человека и вируса рака молочных желез мышей и обезьян и отсутствие такого родства с вирусом лейкоза мышей. Конечно, вирусная природа одонитчатой РНК из саркоматозной и раковой ткани человека и ее функциональная роль еще нуждаются в выяснении, тем не менее эти данные заставляют глубоко задуматься.

У нас в стране в опытах, проводимых под руководством В. М. Жданова, на наличие РНК-содержащих опухолеродных вирусов изучались перевиваемые культуры клеток человека. Выделено несколько агентов со свойствами онкорнавирусов.

В их состав входит РНК с коэффициентом осаждения 67—72S. Они чувствительны к действию актиномина Д. Выделенные частицы имеют характерную для онкорнави-

русов плавучую плотность (1,16 г/мл) и обратную транскриптазу. Успех опытов, как указывают исследователи, обеспечило блокирование антибиотиком митомицином С репрессора, препятствующего функционированию наследственного аппарата вируса в клетке.

Однако в лаборатории проводилась работа с вирусами опухолей кур и мышей, а для приготовления культуры использовали свиной трипсин и телячью сыворотку, которые могли содержать скрытые опухолеродные агенты. Поэтому ученые стремятся сейчас исключить возможность занесения в опытные культуры опухолеродных вирусов животных.

Агенты со свойствами онкорнавирусов обнаружили в ряде перевиваемых линий раковых и лейкозных клеток человека В. Д. Соловьев с сотрудниками, К. В. Ильин и А. Ф. Быковский. Интересно, что выделенные частицы относятся ко всем трем типам А, В и С. Особый интерес представили частицы типа В из перевиваемых клеток рака гортани человека. Они отвечали всем свойствам онкорнавируса. Обычно РНК-содержащий опухолеродный вирус типа В связывают с раком молочных желез у животных и человека, а в этом исследовании его нашли при раке гортани. Эти опыты — еще один обнадеживающий поиск возможного кандидата в вирусы рака человека. Но, конечно, и тут впереди непочатый край работы.

* * *

Еще одна линия исследований ведет к поискам вируса у больных лейкозом. Как сказано ранее, в ряде лабораторий давно велись поиски лейкозных вирусов человека. В последнее время появились новые важные данные преимущественно с использованием метода клеточной культуры, которые указывают на присутствие в лейкозных клетках онкорнавирусов типа С, а иногда также А и В.

В лейкоцитах больных методом гибридизации нуклеиновых кислот была обнаружена РНК, родственная РНК вируса лейкоза мышей. Она не выявила родства с РНК вирусов рака молочных желез мышей и лейкоза птиц. Подобной РНК не было в лейкоцитах здоровых взрослых людей и в клетках человеческих эмбрионов. Эти данные, полученные в лаборатории Спигельмана, весьма интересны.

Именно лейкозы в течение последних 20 лет являлись главным объектом при исследовании роли вирусов в опу-

холевых заболеваниях человека. В последние годы ученые изучали преимущественно лимфому Бэркита и значение в ее возникновении ДНК-содержащего вируса ЭБВ. Исследования Спигельмана вновь привлекли внимание к РНК-содержащему агенту и его причинной роли при лейкозах человека.

Американский ученый Роберт Галло выделил обратную транскриптазу из лейкозных клеток человека. Он испытал ее с РНК из куриного опухолеродного вируса и с разными синтетическими РНК. Оказалось, что фермент ведет себя подобно обратным транскриптазам опухолеродных вирусов животных.



БОРИС АРКАДЬЕВИЧ ЛАПИН

Спигельман исследовал образцы крови 23 больных лейкозом и в 95% случаев нашел обратную транскриптазу, связанную с 70S РНК, предположительно вирусного происхождения. Используя этот комплекс (фермент+РНК), он получил ДНК, которая давала гибриды с РНК разных онкорнавирусов животных. Метод гибридизации, как известно, очень точно определяет степень родства двух нуклеиновых кислот: чем ближе они друг к другу, тем больше образуется гибридных молекул. Оказалось, что полученная ДНК имела наибольшее родство с лейкозными вирусами и значительно меньшее с онкорнавирусами животных, не вызывающими лейкоз. Выявление в лейкозных клетках 70S РНК и обратной транскриптазы косвенно указывает на наличие вируса. Но прямым доказательством, естественно, явится сам вирус, когда он окажется в руках ученых. В поиски вируса лейкоза включились многие.

Обширные исследования в этом направлении проведены двумя научными коллективами под руководством О. Г. Анджапаридзе и Б. А. Лапина.

О. Г. Анджапаридзе начал свои опыты в 1966 г. В культуры клеток человека внесли кровь больных лейкозом.

В контроле использовали кровь здорового человека. Клетки опытной культуры после ряда перевивок резко изменились: из веретенообразных, вытянутых превратились в шаровидные и стали расти не одним слоем, как в контроле, а наползая друг на друга и образуя узелки. Они приобрели все свойства саркоматозных клеток. Многие из них достигли гигантских размеров и содержали до двадцати мелких ядер. При электронной микроскопии в них обнаружили частицы, по форме, размерам и структуре напоминающие вирус лейкоза животных. Но если в клетках есть вирус, возможно он выделяется из них в питательную среду? Действительно, когда среду перенесли в чистую культуру клеток человека, через несколько перевивок снова произошла трансформация. Трансформированная культура получила название Т-9 (Т — трансформированная, 9 — номер флакона), а вирус — ЛПВ (лейкозоподобный вирус). Началось наступление на вирус. Ученые стали изучать его во многих направлениях. ЛПВ обладал всеми свойствами онкорнавируса.

Размеры частиц составляли 110×80 нанометров, в центре их располагался кольцевидный нуклеоид (90×30 нанометров), окруженный двухконтурной оболочкой. Частицы имели характерную плавучую плотность 1,16—1,17 г/мл, содержали обратную транскриптазу и трансформировали клетки человека. Вирус неизменно обнаруживался в трансформированных клетках и мог переноситься бесклеточным материалом из культур человеческих клеток. Описано уже 105 переносов вируса. Всё это указывает на то, что вирус не только трансформирует клетки человека, но и размножается в них. Действительно, в электронный микроскоп удавалось обнаружить в небольшом количестве зрелые и незрелые частицы типа С и много слегка вытянутых (70×50 нанометров) частиц типа А. Ученые описали также необычные нитевидные формы незрелых частиц типа С с цилиндрическим нуклеоидом, достигавшим в длину 800 нанометров. Формирование частиц происходило путем отпочкования на клеточных оболочках. По своей антигенной структуре они в точности походили на другие опухолеродные вирусы.

Группоспецифические антигены вируса не давали перекрестных реакций с антигенами вирусов опухолей мышей и кур. В культурах клеток человека, зараженных кровью больных лейкозом людей, выявились антигены, сходные с антигенами ЛПВ. РНК вируса ЛПВ давала гибри-

ды с ДНК из зараженных лейкозной кровью клеток человека.

Проводятся дальнейшие исследования природы найденного вируса. Ведь при культивировании клеток человека используют продукты животного происхождения, которые также могут содержать скрытые опухолеродные агенты. Поэтому нужны еще доказательства, что человек — естественный хозяин выделенного вируса и что последний является причиной лейкоза.

Интенсивно изучаются вирусы, обнаруженные под руководством Б. А. Лапина в Сухуми путем введения крови больных лейкозом людей обезьянам макакам бурым и павианам гамадрилам. Об этих исследованиях мы подробно рассказывали в главе, посвященной вирусам обезьян. У части животных появилось заболевание, которое не было типичным лейкозом, но сопровождалось поражением кроветворной ткани. У двух обезьян развился лейкоз. Фильтрат их крови перевивали до восьми раз от одной здоровой макаки другой. И снова у части животных наблюдали нетипичные лейкозоподобные заболевания.

В клетках обезьян обнаруживали частицы типа С и специфический антиген, отличающийся от всех антигенов клеток необработанных животных, а также макак, которым ввели кровь здоровых людей и обезьян. Этот антиген реагировал с антителами к лейкоцитам и плазме больных лейкозом людей. Вирус типа С находили также в крови павианов гамадрилов после введения им крови больного лейкозом человека. Более детальные исследования выявили у больных животных частицы двух типов С и А. По всем свойствам они относились к онкорнавирусам. Их происхождение и роль при лейкозе человека — предмет дальнейшего изучения.

В 1971 г. группа американских исследователей (Е. Прайори, Л. Дмоховский, Б. Майерс и Дж. Уильбар) сообщила о выделении вируса из клеток лимфомы человека. Эти клетки, длительно поддерживаемые в культуре, содержали вирусные частицы типа С, которые постоянно поступали в культуральную среду. Это позволило выделить вирус и исследовать его. Он разделял свойства других онкорнавирусов с частицами типа С. Вирус получил название ESP-1.

Первоначально все как будто подтверждало, что это вирус человеческого происхождения. Однако тщательные

исследования его антигенной структуры показали, что наряду с группоспецифическим межвидовым антигеном gr₃ частицы вируса ESP-1 содержат внутренний видоспецифический gr₁, реагирующий с антисывороткой к мышинному видоспецифическому антигену. Другим подтверждением связи ESP-1 с мышинным лейкозным вирусом явилось родство их обратных транскриптаз.

Мы указали выше, что этот фермент у опухолеродного вируса обезьян не имеет общих антигенов с аналогичным ферментом онкорнавирусов мелких млекопитающих. Фермент же вируса ESP-1 перекрестно реагировал с обратной транскриптазой всех РНК-содержащих опухолеродных вирусов грызунов и кошек, но более всего — с вирусом лейкоза мышей. Все это привело к выводу, что вирус ESP-1 не человеческого, а мышинного происхождения.

По данным американского ученого Альберта Дальтона, изучавшего его в электронный микроскоп, ESP-1 отличается по своей структуре от всех других опухолеродных вирусов мышей.

В какие сложные взаимоотношения могут вступать агенты человеческого и животного происхождения, показывают опыты двух американских ученых — П. Арнштейна и Дж. Тодаро.

Опухолевые клетки человека привили мышам линии NIH (названа по Национальному институту здоровья — National Institute of Health). Предварительно у животных искусственно подавляли защитную систему, чтобы снять реакцию иммунитета на чужеродные клетки. У мышей развились опухоли, в которых обнаружили частицы типа С. Ни в клетках человеческих опухолей, ни у здоровых мышей этой линии свободных частиц типа С не было. Правда, в мышинных клетках открывался группоспецифический антиген, говоривший о присутствии наследственного вещества вируса.

Что представляли собой вновь выделенные вирусные частицы? Они имели внутренний группоспецифический антиген мышинных онкорнавирусов, но не размножались в мышинных клетках, так как их поверхностный антиген нес, видимо, иную специфичность. Он отличался от антигенов всех известных мышинных вирусов и вызывал образование антител, указывающих на его происхождение из клеток человека. Таким образом, частицы из опухолевых

клеток характеризовались смешанным «мышино-человеческим» составом. Их появление объясняют активацией наследственного вещества вируса, скрытого в организме мышей, под влиянием агента из опухолевых клеток человека.

Это направление исследований было подхвачено, и сейчас уже описаны пять типов частиц смешанного состава. Их можно получить в большом количестве, и это открывает новые возможности для экспериментов.

Разумеется, у исследователей сразу же возникла мысль: нельзя ли использовать подобные вирусы в борьбе с раком? Например, для приготовления убитых вакцин. Ведь в опытах с опухолями мышей и крыс такие вакцины эффективны. Можно надеяться, что будущие исследования в этом направлении принесут желаемые результаты.

Итак, поиски вируса в злокачественных опухолях человека привели к многим находкам и неожиданным результатам и к не меньшему числу суждений о них.

Еще идут споры о видовом происхождении каждого из выделенных вирусов-кандидатов, а ученые думают уже о приготовлении вакцины, которая помогла бы в борьбе со злокачественными опухолями. Дело теперь за самим вирусом лейкоза, саркомы или рака человека.

ТЕОРИЯ ОНКОГЕНА

Мы начали нашу книгу с описания успехов в обнаружении вирусов, вызывающих в эксперименте опухоли у животных. Однако первые успехи вскоре сменились затишьем. Неудача следовала за неудачей. Все реже стали слышаться голоса в защиту вирусной теории. Что же произошло?

Во-первых, оказалось, что во многих природных опухолях у животных и человека и в опухолях, вызванных химическими веществами и облучением, вирусных частиц нет или, во всяком случае, выявить их не удастся никаким доступным методом.

Во-вторых, в природных и искусственно вызванных опухолях не выявляли общих антигенов. А они, как считалось, должны были обнаруживаться, если бы опухоли имели вирусное происхождение.

Эти представления основывались на том, что опухолевые агенты, подобно всем другим вирусам, поддерживают свое существование в природе, распространяясь среди животных в основном одного и того же или близкого поколения путем «горизонтальной передачи». Именно так передаются почти все инфекционные вирусы. Их всегда удается обнаружить в зараженном организме: в нем находят инфекционные частицы, вирусные антигены, антитела к вирусным белкам.

Отсутствие этих признаков инфекции в природных и многих экспериментальных опухолях рассматривалось как неопровержимый аргумент против теории, согласно которой вирусы являются причиной всех злокачественных опухолей.

Вирусная теория предполагала, что вирус постоянно находится в опухолевой клетке, обеспечивая передачу опухолевого состояния от одного клеточного поколения другому. Поскольку доказательств этого не было, возникла гипотеза, согласно которой вирус лишь «портит» наследственный аппарат клетки, вызывая в нем необратимые изменения — *мутации*. Как только они возникают, для поддержания опухолевого состояния в последующих клеточных поколениях вирус уже не нужен. Именно такой взгляд высказал в 40-е годы Л. А. Зильбер.

Внешние условия (облучение и химические канцерогенные вещества) и внутренние (гормоны и наследственное предрасположение), по мнению многих ученых, могли рассматриваться в качестве причин, вызывающих рак, в той же мере, как и вирусы. При этом одни исследователи брали за основу влияние внешней среды («химическая» и «лучевая» теории происхождения рака), другие — изменения в наследственном аппарате клеток тела (теория «соматической мутации») ⁶⁰. Наконец, многие ученые склонялись к тому, что рак может быть вызван разными причинами, и поэтому неправильно связывать его развитие с каким-то одним фактором внешней или внутренней среды. Сторонником последнего взгляда в нашей стране был знаменитый хирург Николай Николаевич Петров.

⁶⁰ От латинского слова «сома» — тело. Соматическими называют все клетки организма, кроме половых.

Действительно, в эксперименте все перечисленные внешние и внутренние факторы могли вызвать рак, и одно это обстоятельство составляло значительное затруднение в принятии вирусной теории происхождения всех злокачественных опухолей.

Ожесточенные дискуссии между сторонниками разных теорий продолжались все 40—50-е годы. Маститые ученые с блеском и остроумием опровергали доводы своих противников, аудитория восторженно приветствовала каждую смелую мысль, яркое сравнение, острый выпад, шутку, а иногда и насмешку. Самым яростным защитником вирусной теории был у нас профессор Л. А. Зильбер. Ему и его школе противостояли известные советские ученые. Среди них: Л. М. Шабад, И. М. Нейман, П. Ф. Здродовский, Л. Ф. Ларионов, П. Н. Косяков, В. И. Иоффе.

Свидетельницей и участницей подобных «сражений» был и автор этих строк. Главным его принципиальным противником был Иосиф Абрамович Кассирский — крупнейший терапевт нашего времени, человек большого ума, эрудиции и темперамента. Не было такого совещания, где бы не «скрещивались шпаги» за и против вирусной теории. Главный его аргумент: лейкоз, саркома и рак не заразны, а потому и нет оснований предполагать их инфекционную, вирусную природу. Как терапевт, он стоял на позиции соматических мутаций.

Эту теорию, на время отступившую на второй план, вновь выдвинул в 60-е годы видный австралийский ученый Бернет в качестве антипода вирусной. Основное ее положение: рак — результат мутации соматической клетки и последующего отбора *клона*⁶¹ мутантных опухолевых клеток. Мутации возникают в организме сами по себе, но их появление может быть ускорено под влиянием облучения, химических канцерогенных веществ и опухолеродных вирусов, которые подавляют защитную систему организма. В естественных условиях эта система активна, особенно в молодом возрасте. Она вырабатывает антитела и стоит на страже интересов организма, препятствуя распространению возникающих в ней опухолевых клеток, или, как говорит Бернет, накладывают на

⁶¹ Клон — совокупность потомков одной клетки, от греческого — отпрыск, побег.



них запрет. «Запрещенные» клетки разрушаются факторами иммунитета, погибают. К старости этот иммунологический страж ослабевает и начинает плохо исполнять свои обязанности. В этих условиях из быстроразмножающихся опухолевых клеток может формироваться опухоль. Подавляя систему иммунитета, химические и физические канцерогены и вирусы, в общем, приводят к тому же эффекту, что и старение. Но во всех случаях истинной причиной рака являются не внешние факторы, а наследственные изменения — мутации, приводящие к появлению опухолевой клетки.

Эта теория хорошо согласовалась с эпидемиологическими данными о разбросе случаев рака у разных народов, в разных странах, в разные годы среди людей разных возрастов. (Лимфома Бэркита в Экваториальной Африке остается исключением среди других опухолей человека и не вносит поэтому существенных изменений в общую эпидемиологическую картину.) ДНК-содержащие опухолеродные вирусы — ОВ40, аденовирусы человека, обезьян и птиц — отнюдь не подрывали основ теории Бернета,

так как не вызывали опухоли у того вида, который являлся их естественным хозяином. Способность ДНК-содержащих вирусов приводить к опухолевому росту у чужеродного хозяина могла быть удовлетворительно истолкована в рамках теории Бернета (с учетом их воздействия на систему иммунитета организма). Исключением, пожалуй, были вирус полиомы (он приобретал опухолеродные свойства для новорожденных мышей, после ряда пересевов в культуре ткани), вирус болезни Марека и ЭБВ.

По мере развития вирусологических и других исследований накопились данные, которые породили новые теории происхождения рака. Одни из них ставили во главу угла сдвиги в реакциях иммунитета; другие — изменения поверхностных свойств опухолевых клеток; третьи — активацию «молчащих» клеточных генов и изменение дифференцированного состояния клеток в сторону упрощения; четвертые — «вертикально» передающиеся опухолеродные вирусы и т. д.

Обобщив новые экспериментальные материалы, Л. А. Зильбер в 1961 г. выдвинул вирусо-генетическую теорию. По этой теории, причина рака — вирус-носитель фактора, вызывающего опухолевые превращения. Новая вирусная наследственная информация, включаясь полностью или частично в геном клетки, вызывает в ней изменения, выводит из-под влияния систем организма, регулирующих ее рост и размножение, и создает условия для неконтролируемого клеточного размножения. При благоприятных условиях в организме возникает клон опухолевых клеток и образуется опухоль. Вызвав переход клетки в опухолевое состояние, вирус не участвует в дальнейшем процессе. Физические и химические канцерогены, не являясь причиной опухоли, влияют на проявление вирусом его опухолеродных свойств.

Наиболее развернутое и полное отражение эта теория получила в книге Л. А. Зильбера «Вирусо-генетическая теория возникновения опухолей», вышедшей посмертно в 1968 г. Мы остановились только на ее основных исходных положениях. Теория Л. А. Зильбера охватывает как ДНК-, так и РНК-содержащие опухолеродные вирусы, хотя в то время было твердо установлено внедрение в клетку только генетического аппарата ДНК-содержащих опухолеродных вирусов. Правда, Г. Темин высказал до-

гадку об образовании с РНК опухолеродного вируса ДНК-копии, или провируса, включающегося в клеточный наследственный аппарат, но механизм этого процесса оставался еще не ясным. Лишь после обнаружения обратной транскриптазы сформулированная Теминым теория провируса получила твердый базис и признание.

На современном этапе исследований центр тяжести перенесен как раз на изучение механизма опухолеродного действия РНК-содержащих вирусов (онкорнавирусов).

Об этих вирусах накопились следующие данные.

1. Они нередко обнаруживаются в природных опухолях, а также в вызванных экспериментально канцерогенными химическими веществами и облучением. Введение онкорнавирусов животным приводит к развитию опухоли. В тех случаях, когда опухоли не перевиваются фильтратом, в электронный микроскоп все же удается обнаружить типичные вирусные частицы (при раке груди — типа В, при других злокачественных опухолях обычно типа С) или же продукты с вирусной меткой, указывающие на присутствие наследственного вещества вируса.

2. В нормальных, неинфицированных клетках эмбрионов и только что родившихся животных или вылупившихся цыплят обнаруживаются группоспецифический антиген и частицы типа С, указывающие на наличие и функционирование вирусных генов. Позднее эти гены подавляются и в скрытом состоянии могут длительно находиться в организме.

3. В природных условиях основным фактором «пробуждения» вирусов является старение. В эксперименте их наследственный материал искусственно активируется у здоровых неинфицированных животных рядом факторов. К ним относятся химические канцерогены, облучение, гормоны, мутагены, инфекция другими вирусами. Содержащиеся в нормальных клетках опухолеродные вирусы выходят из «оцепенения» при многократных перевивках в культуре ткани.

У «низкоракowych» животных (редко болеющих раком) это осуществляется труднее, чем у «высокоракowych». Онкорнавирусы, являясь причиной многих естественно возникающих опухолей, очень широко распространены среди здоровых животных. Было высказано предположение, что в наследственном аппарате клеток всех позвоночных содержится их наследственное вещество,

В 1969 г. американские исследователи Р. Хюбнер и Дж. Тодаро, приведя в систему результаты многих экспериментов и наблюдений, сформулировали гипотезу, получившую название «теории онкогенов».



РОБЕРТ ДЖОЗЕФ ХЮБНЕР

Согласно этой теории, клетки позвоночных содержат наследственное вещество онкорнавирусов, которое представлено двумя оперонами: один — *виrogen* — дает информацию для формирования вирусной частицы, другой — *онкоген* — ответствен за опухолевое преобразование клетки. Оба оперона функционируют в клетке независимо друг от друга, но обычно они подавлены. В раннюю эмбриональную стадию первый оперон частично проявляет себя, образуется вирусная информационная РНК, группоспецифический антиген, частицы типа С. Затем все вирусные гены прочно репрессируются и находятся в таком состоянии очень долго, большей частью в течение всей жизни животного, передаваясь от одного клеточного поколения другому. Они содержатся и в половых клетках и поэтому переходят от родителей к потомству. Подобная «вертикальная» передача обеспечивает широкое распространение наследственного вещества онкорнавирусов в природе.

Появление опухоли или вирусных частиц зависит от перехода того или другого оперона (или обоих вместе) из подавленного состояния в активное. Неактивное состояние вирусных генов в клетке обусловлено действием клеточных репрессоров. У животных разных видов и пород, разного возраста, в клетках разных тканей эти репрессоры неодинаково сильны. Например, в эпителии, выстилающем кожные покровы и слизистые оболочки, более, чем в соединительной ткани, а в последней более, чем в кроветворной. Поэтому в раннем возрасте рак (злокачественная опухоль, происходящая из эпителия) и сар-

кома (опухоль, происходящая из соединительной ткани) наблюдаются редко, а лейкозы (опухолевые изменения кроветворной ткани) — чаще.

По мере старения организма репрессоры ослабевают. Их существование предполагается теорией онкогенов, но пока они еще не найдены. На их обнаружение возлагаются немалые надежды — ведь это откроет новый путь для предупреждения и лечения рака.

Различные дефекты в наследственном аппарате клетки, мутации, воздействие внешних агентов — облучения, химических веществ-мутагенов и канцерогенов, а также других вирусов — все это может ослабить действие репрессоров и тем самым способствовать активации онкогена и развитию опухоли. Тип опухоли будет зависеть от особенностей клетки, в которой активируется онкоген: из эпителиальной возникает рак, из кроветворной — лейкоз, из клетки соединительной ткани — саркома.

Опероны имеют независимые репрессоры. Если одновременно активируются оба оперона, происходит и продукция инфекционных частиц и развитие опухоли. При этом опухоли можно перевивать бесклеточным материалом за счет содержащегося в них инфекционного вируса, в составе которого имеется активный онкоген. Бесклеточная перевивка и заключается во введении дополнительного набора активных онкогенов, вызывающих трансформацию даже в том случае, если содержащиеся до инфекции онкогены были в клетке неактивны. Обычно опухоли не содержат свободного вируса, и активны в них только онкогены. Инфекция онкорнавирусом ведет к привнесению в клетку дополнительных онкогенов, но приведет ли она к развитию опухоли, зависит как от вируса, так и от хозяина.

Таким образом, по теории онкогена в основе опухолевого роста лежат нарушения в регуляторном механизме, «включающем» или «выключающем» определенные участки наследственного вещества вируса, который постоянно присутствует в геноме клеток позвоночных животных. Естественно возникает вопрос, всегда ли оно было в клетке или, иначе говоря, является ли вирусное наследственное вещество неотъемлемой частью клеточного генома? На этот вопрос теория онкогена отвечает так: вирусные гены попали в клетку извне в результате инфекции, происшедшей более 300 млн. лет назад. Лишь после этого клетки позвоночных приобрели вирусные гены.

Но не слишком ли пессимистична теория, признающая наличие онкогена в каждой клетке нашего тела? На это Тодаро замечает: «В противовес представлению, что теория онкогена пессимистична, поскольку она говорит, что каждый несет семена собственной гибели, она оптимистична, поскольку предполагает единственный механизм (или относительно мало механизмов) образования опухолей». Иными словами, когда онкоген активируется, вирус передает информацию для синтеза особого трансформирующего белка.

Как только этот белок образуется, клетка приобретает злокачественные свойства независимо от того, содержит ли она инфекционные вирусные частицы. Присутствие их скорее помогает организму отреагировать на появление опухолевой клетки, бросив против нее весь арсенал средств защитной системы.

Итак, пусковой механизм опухолевого превращения — трансформирующий белок. Что он собой представляет? Пока это еще неизвестно. Многие ученые пытаются найти его, надеясь тем самым открыть новый путь к предотвращению рака.

Теория онкогена весьма привлекательна. Она интенсивно разрабатывается, подкрепляясь новыми и новыми фактами.

Приведем некоторые из них.

1. Наследственное вещество онкорнавируса обнаружили в клетках неприрученных и диких животных, а также у «безвирусных» кур, фазанов, у многих линий лабораторных мышей, крыс и хомяков, кошек и обезьян (гиббонов).

2. Частицы онкорнавирусов выявили в электронный микроскоп у животных из разных классов после воздействия на их клетки мутагенами, канцерогенами и облучением.

3. Частицы онкорнавирусов типа С нашли в клетках человека, обработанных мутагенами.

4. Установлена связь между активацией наследственного вещества онкорнавируса и развитием рака: клетки крыс, которые не удавалось трансформировать химическими канцерогенами, легко превращались в опухолевые, если вслед за канцерогеном вводили мутаген, способствующий проявлению генома онкорнавируса крыс.

5. Найдены следы «спящего» хомякового онкорнавируса в опухолях, вызванных у хомяков опухолеродными ДНК-содержащими вирусами человека и животных: аденовирусами, вирусом полиомы мышей, вирусом бычьей папилломы.

6. Показана связь между развитием опухолей у животных и передачей из поколения в поколение гена, ответственного за синтез группоспецифического антигена. В линии мышей, у всех особей которой в ранний период жизни выявлялся этот антиген, рак наблюдался в 98% случаев, тогда как в другой линии, не выявлявшей его, — только в 8% случаев. М. Гарднер и другие обнаружили группоспецифический антиген у 30% диких мышей, с естественно развившимися опухолями.

7. Выявлен ген, регулирующий у черных мышей (линия C₅₇Bl/10Sn) проявление генов онкорнавируса.

8. Из клеток мышей выделен белок с молекулярным весом 60 000, по ряду свойств сходный с репрессором бактериофага. Белок этот подавляет функционирование генома онкорнавируса. В инфицированных клетках содержание его снижается до очень низкого уровня.

Все эти новые данные вполне укладываются в теорию онкогена. Они подтверждают представление о том, что позвоночные имеют геном онкорнавируса в репрессированном состоянии, активация которого ведет к развитию опухоли.

Теория онкогена приобрела многочисленных сторонников. Побудив к интенсивным и многосторонним исследованиям, она сыграла и продолжает играть важную роль в развитии онковирусологии.

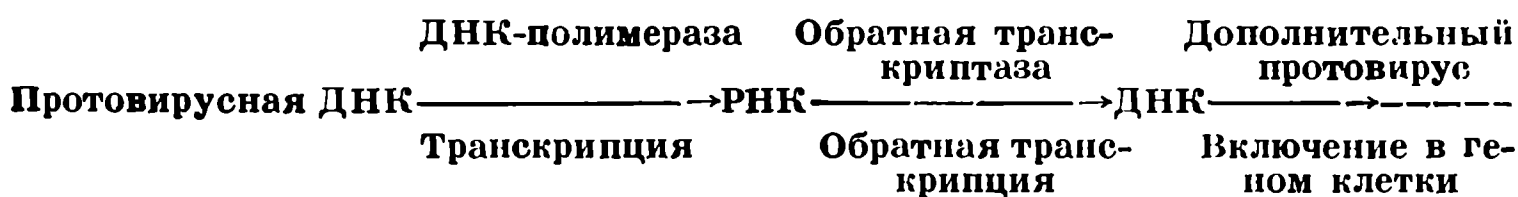
Но, как всегда в науке, есть у нее и противники, которые предлагают иное объяснение накопленным фактам.

ТЕОРИЯ ПРОТОВИРУСА

В 1970 г. Г. Темин выдвинул свою теорию происхождения злокачественных опухолей — теорию протовируса⁶². Основой для нее послужили данные об обратной транскриптазе — ферменте, осуществляющем в клетке перенос информации от РНК к ДНК. По Темину протовирус — это нормальный компонент, участвующий в процессе дифференциации клетки. В начале деления оплодотворенного яйца все клетки одинаковы. Затем путем многократного переноса информации от протовирусного участка ядерной

⁶² От греческого слова «протос» — первый.

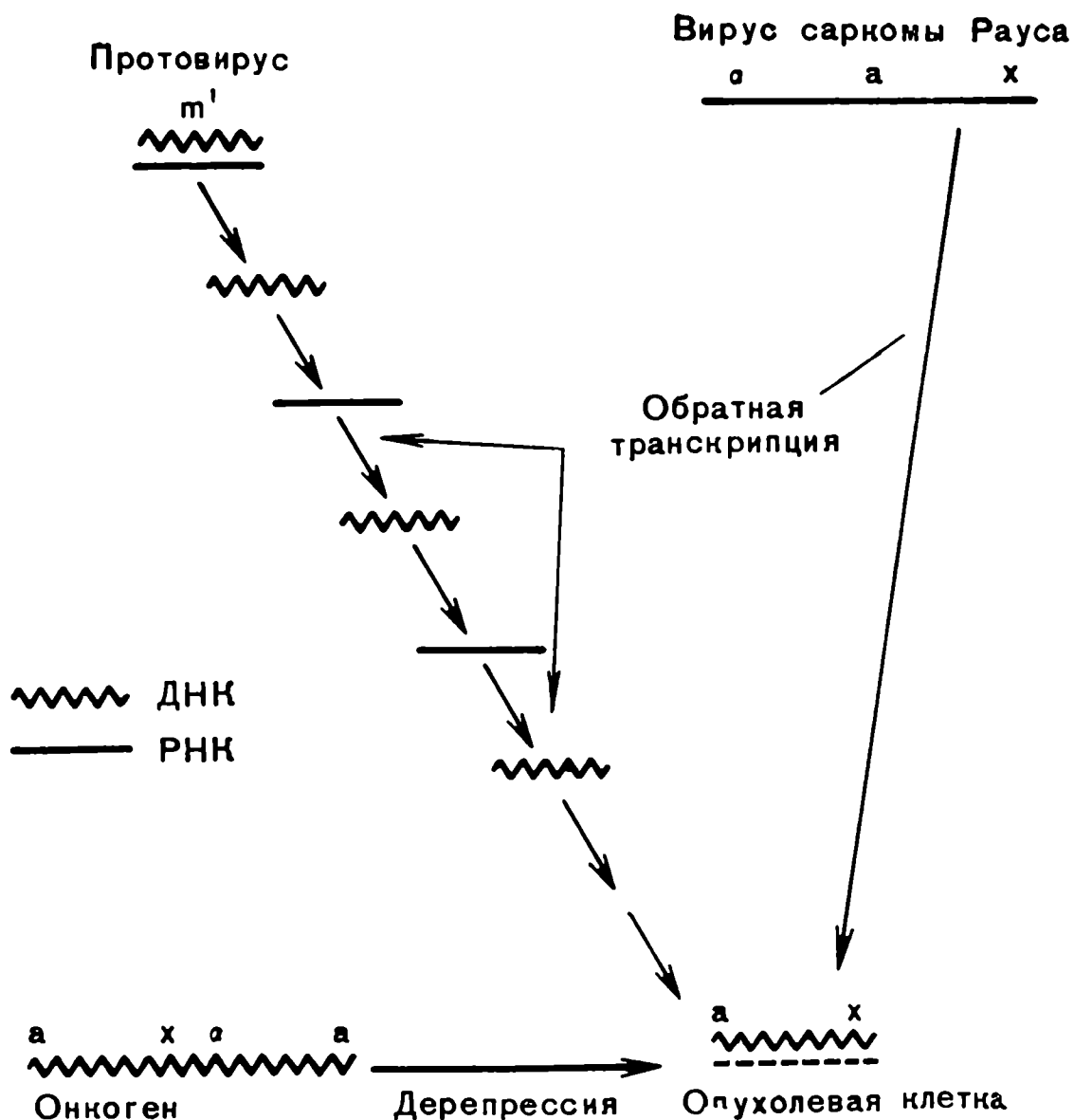
ДНК — к РНК и обратно от РНК — к ДНК, с включением вновь синтезированной ДНК в наследственный аппарат клетки и перестройки нуклеотидов, клетка приобретает усложненный геном, отличающий ее от клетки другой ткани организма. В процессе эмбриональной дифференциации клеток центральная роль принадлежит обратной транскриптазе.



Так на определенной стадии эмбрионального развития образуются кровяные, печеночные, почечные, хрящевые, мышечные, костные, нервные и другие клетки.

Под влиянием разного рода внешних воздействий процесс дифференциации может нарушиться — возникает новая информация. Участие обратной транскриптазы — важное звено в цепи разворачивающихся событий. Появление на базе протовируса информации для опухолевого преобразования клетки — это один из возможных, но крайне редких случаев, наблюдающихся при воздействии канцерогенов — физических, химических, вирусных.

Таким образом, согласно теории протовируса, никаких «опухолевых» генов нормальная клетка не несет. Протовирус обеспечивает лишь потенциальную возможность возникновения опухолевой информации. Последовательность нуклеотидов, присущая протовирусам, гомологична определенным участкам наследственного аппарата онкорнавирусов. Это объясняет, почему при функционировании протовируса на эмбриональной стадии развития или при трансформации в клетках обнаруживаются антигены и другие продукты, разделяющие общую с этими вирусами специфичность. Сам процесс трансформации не связан с продукцией вирусных частиц. Однако в ДНК клетки в результате обратной транскрипции, а затем вставки и рекомбинации вновь образованных ДНК может образоваться полный геном опухолеродного вируса и начнется продукция вирусных частиц. При инфекции онкорнавирусом в клетку вводится готовая опухолевая информация, которая обеспечивает опухолевое преобразование. При введении, например, вируса Рауса этот процесс происходит очень быстро, в течение нескольких дней.



Теория протовируса и онкогена

По теории онкогена (внизу), «а...х» — опухолевая информация имеется в составе наследственного аппарата любой клетки позвоночного животного, находясь в нем в репрессированном состоянии. При дерепрессии «а...х» клетка трансформируется.

По теории протовируса (вверху), в процессе переноса информации от ДНК к РНК, а затем от РНК к ДНК (с участием обратной транскриптазы) иногда возникает новая информация «а...х», приводящая к опухолевому преобразованию клетки.

Вирус Рауса имеет в составе своего генома участок «а...х». По теории протовируса, он вводит его в клетку в виде ДНК-копии, образующейся в результате обратной транскрипции. По теории онкогена, этот участок — онкоген вирус вводит в клетку в активной форме, вызывая клеточную трансформацию.

В опухолевой клетке, по обеим теориям, есть область «а...х» (справа внизу), транскрипция с которой необходима для опухолевого преобразования (по Темину)

Известные сейчас онкорнавирусы Темин делит на две группы: несодержащие и содержащие опухолевую информацию. Вирусы первой группы действуют подобно химическим канцерогенам и облучению: взаимодействуют с клеточными генами и способствуют образованию измененных протовирусных элементов, приобретающих опухо-

леродность. Вирусы второй группы вводят в клетку опухолевую информацию в готовом виде.

Таким образом, в результате обратной транскрипции образуется ДНК-протовирус, несущий опухолевую информацию, который включается в геном клетки, переходя вместе с ним при делении в обе дочерние клетки. С этого момента с протовируса переписывается информация на образование белков, трансформирующих клетку. Развивая взгляд Г. Темина, А. Д. Альтштейн высказал предположение, что саркоматозные вирусы произошли из лейкозных, включив в свой состав клеточные гены, ответственные за регуляцию деления клетки. В дальнейшем эти гены стали функционировать как опухолевые. При заражении клетки вирусы попадают посредством обратной транскрипции в необычные для них участки наследственного аппарата клетки и не подвергаются поэтому его контролю, что и ведет к беспорядочному росту клетки.

Необходимо ли для трансформации включение вирусного генома в клеточный? Теория онкогена отвечает на этот вопрос утвердительно, подчеркивая, что включение наследственного материала онкорнавирусов произошло миллионы лет назад и что именно эти вирусы являются причиной природных опухолей. По теории протовируса опухолевая генетическая информация, необходимая для опухолевого превращения, создается заново в результате нарушения процесса эмбриональной дифференциации при участии протовируса и фермента обратной транскриптазы. Проникновение этого фермента в клетку извне вместе с онкорнавирусами способствует наращиванию опухолевой информации и переходу клетки в опухолевое состояние.

Нам представляется, что при эволюции живых форм и усложнении их генетического аппарата в основе наследственного аппарата высших организмов сохранились последовательности нуклеотидов, свойственные некоторым участкам генома низших форм, в частности нуклеинового вирусного генома. На ранних стадиях развития эти участки функционируют, но затем прочно репрессируются. Проявление их зафиксировано биогенетическим законом, согласно которому онтогенез в самых общих чертах повторяет филогенез. Наличие известной гомологии ДНК клетки и нуклеиновой кислоты вируса может быть связано не с инфекцией вирусом, происшедшей миллионы

лет назад, как утверждают авторы теории онкогена, а с эволюцией клеточного наследственного аппарата.

Какую функцию несут в клетке общие с вирусами нуклеотидные последовательности? Проявляясь в эмбриональную стадию, они могут влиять на процессы зародышевого развития — эмбриогенеза. В этом смысле нам импонирует теория Темина, связывающая действие протовируса с эмбриональной дифференциацией.

РНК- и ДНК-содержащие опухолеродные вирусы, как считают, интегрируются с геномом клетки. Поэтому, если интеграция — ключевой момент опухолевого превращения, то следует признать, что обе группы вирусов в равной мере приспособлены вызывать опухоли. Не самый приятный вывод. Но что поделаешь.

РАБОЧАЯ ГИПОТЕЗА

Каждый исследователь исходит в своей работе из определенной системы воззрений на всю проблему в целом, какой бы частный вопрос он ни изучал. Мы рассказали о наиболее разработанных и популярных теориях: вирус-генетической, теории провируса, теории соматических мутаций, протовируса и онкогена. Все они ставят во главу угла изменения в наследственном аппарате клетки при переходе ее из нормального состояния в опухолевое, будь то мутация или интеграция.

Такой взгляд является наиболее распространенным, но не единственным. Некоторые ученые стоят на иных позициях, переносят центр тяжести с генома клетки на другие ее структуры — поверхностную оболочку, ферментные системы и т. д., которые претерпевают коренные изменения при трансформации. В качестве примера приведем рабочую гипотезу, разрабатываемую И. А. Рапопортом совместно с автором этих строк.

Согласно нашей гипотезе, в результате естественного отбора определенная группа вирусов приобрела способность синтезировать вещества с сильным антиферментативным действием. Эти вещества парализуют в клетке функцию ключевого фермента, контролирующего ее рост и деление, что отражается как на состоянии клеточной

оболочки, так и ее ядра. Подавление ключевого фермента сопровождается нарушением *обратной связи*⁶³ с клеточным геномом. Таким образом, возникает стойкое длительное изменение клетки.

Антиферментативное действие, приобретенное вирусом в процессе эволюции, определяет его опухолеродность. Однако проявляется оно лишь при исключительных условиях, так как в процессе естественного отбора клетки позвоночных тоже выработали способность подавлять функционирование наследственного аппарата опухолеродного вируса.

Проникнув в клеточное ядро в виде «голой» нуклеиновой кислоты, вирус находит вблизи хромосом прикрытое от всех вредных внутриклеточных факторов. Тесная близость с хромосомой лишает, однако, вирусные гены активности. Вирус оказывается в клетке на положении мирного сожителя, своего рода «генетического» симбионта.

Такое мирное сосуществование может сохраняться неопределенно долгое время. Но подобное состояние способны нарушить многие факторы, повышающие темп клеточного деления, ослабляющие обратные связи между ключевым ферментом и наследственным аппаратом клетки. Некоторые вирусные гены нередко функционируют в раннюю фазу зародышевого развития, сопровождающуюся бурным темпом деления. При этом вырабатываются группоспецифические антигены, а иногда и белки оболочки и ферменты, необходимые для формирования вирусных частиц. Однако это происходит в течение короткого периода времени, после чего вирус «замирает».

При старении организма и угасании его функций обратные связи между клеточным геномом и ключевым ферментом ослабевают. Появляются очаги клеточных разрастаний, в которых возникают условия для «пробуждения» опухолеродного вируса. Постепенно начинается выработка антиферментативного вещества, работа ключевого фермента нарушается, и возникает *предраковое состояние*. Полное подавление синтеза ключевого фермента ведет к бесконтрольному, неограниченному делению клетки

⁶³ Обратная связь заключается в том, что убыль фермента в норме ведет к транскрипции с гена (ответственного за его продукцию) и синтезу фермента. При нарушении обратной связи потеря фермента не компенсируется.

со всем комплексом изменений, характеризующих злокачественный рост.

Развитие опухоли — длительный процесс, на течение которого могут повлиять многие факторы. Даже тогда, когда ключевой фермент полностью подавлен под влиянием функционирующего вирусного генома и клетки приобретают все свойства опухолевых, организм не перестает бороться, направляя против них свои защитные силы. Под влиянием защитных факторов происходит разрушение и рассасывание опухолевых клеток.

При неполном подавлении ключевого фермента, сопровождающемся доброкачественным ростом, рассасыванию опухоли нередко способствуют гормональные сдвиги⁶⁴. В других случаях гормоны, усиливая клеточное деление, приводят к активации вируса.

Мы называли внутренние факторы — старение и гормоны, но опухолевому превращению способствуют и многие внешние воздействия — мутагены, канцерогены, облучение, нарушающие обратные связи ключевого фермента с геномом клетки. Взаимосвязи и взаимозависимости, на фоне которых в организме формируется раковая опухоль, необычайно сложны.

Исходя из этой гипотезы, опухолевый процесс можно прервать на любом этапе, хотя и не с одинаковой легкостью. Даже если клетка превратилась в злокачественную, а ее наследственный аппарат остался неповрежденным, достаточно парализовать антиферментативное действие опухолеродного вируса, восстановить контроль над делением, чтобы клетка «выздоровела» и снова приобрела нормальный вид и свойства.

Случается ли это в действительности? Да, и это подтверждают опыты реверсии. Прослежено образование из опухолевой клетки клетки-ревертанта, восстановившей нормальный вид и функции. В клетке-ревертанте вирусный геном может сохраниться, а при изменении условий снова «проявить» себя. Если же клетка утратит его, состояние реверсии будет стойким.

Из гипотезы вытекает, что использование веществ, нейтрализующих антиферментативное действие опухолеродного вируса, — один из возможных путей лечения предра-

⁶⁴ Опухоли, на рост которых влияют гормоны, называют гормонозависимыми.

кового состояния и рака. Центральным моментом, естественно, является распознавание предракового состояния.

Если по какой-либо причине образуется вирус, лишенный гена, ответственного за продукцию антиферментативного вещества, такой мутант утрачивает опухолеродность. Мутанты, не способные к трансформации клетки, обнаружены учеными. Выявление вещества, кодируемого вирусом, которое подавляло бы ключевой фермент клетки и вело к трансформации, явилось бы прямым подтверждением гипотезы.

Время от времени в литературе появляются сообщения о нахождении в опухоли кодируемых вирусом веществ, не входящих в состав вирусных частиц. Каждое из таких веществ заслуживает самого пристального внимания. Из последних открытий следует упомянуть данные Лауры Аурельян, Альберта Сэбина, Гулро Тарро и Арреля Голлингсхэда, в которых некллеточное происхождение обнаруживаемого вещества подтверждалось выработкой к нему специфических антител у ракового больного (к собственным продуктам организм, как известно, не вырабатывает антител). Оценить значение этих исследований пока трудно, не ясно еще, вызывает ли найденный субстрат трансформацию клетки.

Казалось, что сильным аргументом против теорий и гипотез, отрицающих роль изменений наследственного аппарата клетки как первопричины опухолевого превращения, являются данные американского генетика Бурдетта. В его опытах, проведенных совместно с Йонг Сик Юном, у опухолеродного вируса выявилась способность вызывать мутации генов. Эти ученые использовали наиболее изученную генетиками модель мушки дрозофилы и нашли, что вирус саркомы Рауса, подобно многим другим мутагенам, вызывает у мушки с большой частотой мутации, а у некоторых насекомых также и опухоли. Но если опухолеродные вирусы — действительно мутагены, нельзя исключить их действие на наследственный аппарат при трансформации клетки.

Важность этого вопроса побудила нас совместно с И. А. Рапопортом и Д. М. Левиной поставить аналогичные эксперименты. Мы использовали ту же методику и тот же штамм вируса саркомы Рауса, а затем значительно расширили сферу исследований, включив несколько других методов и штаммов. Ни в одном случае нам

не удалось подтвердить данные Бурдетта. Отрицательные результаты дали и наши эксперименты с другими опухолеродными агентами — вирусом полиомы и аденовирусом человека 12-го типа. Таким образом, в наших опытах ни один из испытанных РНК- и ДНК-содержащих вирусов не вызывал мутаций в весьма чувствительном к ним наследственном аппарате дрозофилы, по общему уровню строения сходном с нуклеопротеиновым геномом клетки позвоночного.

Следует отметить, что, по многим литературным данным, мутации в трансформированных вирусом клетках — явление вторичное, не обязательное для самого перехода клетки в опухолевое состояние.

Согласно нашему взгляду, ДНК- и РНК-содержащие опухолеродные вирусы являются «генетическими» симбионами, причем последние сохраняются в клетке в виде ДНК-копий, образуемых под влиянием обратной транскриптазы. Наличие гомологии с ДНК клетки — существенный момент в установлении таких отношений.

Еще несколько слов об обратной транскрипции и интеграции. Мы писали, что теория протовируса придает обратной транскрипции ведущее значение, а теория онкогена — только историческое.

Вопрос о связи трансформации с интеграцией не кажется нам решенным. Мы склонны думать, что за полосой повального увлечения идеей интеграции последует более трезвая оценка.

Интеграция обнаружена у вируса ОВ40 при продуктивной инфекции. Она не выявлена у ДНК-содержащего вируса герпеса ЭБВ. В ряде работ приведены данные о свободном состоянии ДНК-копии онкорнавируса в трансформированной клетке.

Интеграция нуклеинового генома опухолеродного вируса с клеточным нуклеопротеиновым геном представляется нам весьма сложным процессом. Предположение о слиянии геномов возникло по аналогии с тем, что было установлено при изучении фага. Наследственный аппарат его включается в ДНК клетки-хозяина. Это доказано как для бактериофага и бактерии, так и для актинофага и актиномицета. Установлены многие особенности процесса включения фагового наследственного вещества в клеточное. Профаг, или фаговая ДНК, сцепленная с ДНК клетки-хозяина, удваивается одновременно с ней и передается при делении дочерним клеткам.

Пока фаг сцеплен, зрелые фаговые частицы не образуются. Он оказывается как бы спрятанным в клетке, иногда в течение многих поколений.

Между поведением фага и опухолеродного вируса в клетке хозяина, несомненно, имеется определенное сходство. Но следует принять во внимание, что фаги паразитируют только на клетках низших форм (бактерии, актиномицеты), которые имеют одинаковый с ними уровень строения наследственного аппарата — нуклеиновый геном.

Опухолеродные вирусы поражают клетки высших организмов, у которых наследственный аппарат совсем иного уровня строения. Это нуклеопротеиновые хромосомы. По своей структуре и функциям они несравненно выше вирусного генома. Нуклеопротеиновые хромосомы, например, имеют особые функционально обособившиеся участки — центромеры и теломеры, которых нет в геноме вируса. Они обладают весьма сложным многофазным механизмом воспроизведения (мейоз, митоз). У опухолеродных вирусов и всех других низших форм аналогичных механизмов нет. Образование копий наследственного вещества происходит у них крайне примитивно. Такой важный для работы наследственного аппарата процесс, как обмен материала внутри гомологичных пар хромосом (кроссинговер), осуществляется у высших организмов без предварительного разрыва и участия ферментов, а у вирусов обязательно требует разрыва цепи ДНК под действием фермента нуклеазы и последующего склеивания с помощью лигазы. Различия в уровне структуры наследственного аппарата высших и низших форм отражаются и на их способности к мутациям. Высшим организмам присущи такие их формы, которые совершенно немыслимы для вирусов: например, полиплоидия — увеличение числа наборов хромосом в клетке.

Для слияния генома опухолеродного вируса и клетки позвоночного ввиду их глубоких различий требуются какие-то особые условия или механизмы. Вероятность включения значительно возросла бы, если опухолеродные вирусы вызывали бы мутации в геноме клетки хозяина. Но их мутагенная активность остается под вопросом.

Основные доказательства интеграции получены в опытах гибридизации нуклеиновых кислот. Сам по себе этот метод очень важен для определения родства двух нуклеиновых структур. Образование гибрида — четкое доказательство гомологии.

Для постановки опыта необходимы чистые одноцепочечные молекулы. Когда из клетки химическим путем извлекают ДНК и освобождают от связи с белком, она претерпевает необратимые изме-

нения, переходя из генетической в химическую структуру. Денатурация нуклеиновых кислот, в результате которой получают одноцепочечные молекулы, участвующие в образовании гибридов, существенно изменяет их: снимаются различия между уровнем строения клеточного и вирусного наследственного аппарата, утрачиваются одни активные центры, возбуждаются другие, ранее заблокированные, повышается неспецифическое сродство.

Не исключено, что во время процедуры выделения и очистки в ДНК клетки включаются примыкающие к хромосомам «голые» нуклеиновые кислоты опухолеродных вирусов. Такие опасения вызваны тем, что вычисленная на основании опытов гибридизации частота включения геномов опухолеродных вирусов в хромосому клетки значительно превышает частоту включения наследственного вещества бактериофага в ДНК бактерии. Теоретически она должна уступать ей, так как высокий уровень строения наследственного аппарата клетки создает мощные структурные барьеры, препятствующие включению чужеродной нуклеиновой кислоты. Этих барьеров нет у бактерий. У молекулы ДНК из хромосомы позвоночных эти барьеры утрачиваются при необратимом изменении в процессе обработки. В свете подобных соображений во всех случаях, когда используемый метод включает химическое выделение и очистку клеточной ДНК, для установления интеграции ее с вирусной требуется дополнительное доказательство первичного характера прочной связи двух геномов.

Но допустим, что слияние геномов произошло. Будет ли эта связь стойкой? Можно ли представить себе длительную передачу вирусного генома в составе хромосомы клетки высшего организма от одного клеточного поколения другому? Обратимся снова к хорошо изученному процессу включения генома бактериофага в бактериальный. Связь между ними нарушается под влиянием различных физических и химических воздействий окружающей среды, выбрасывающих фаговые гены из генома бактерии. Таким образом, эта связь значительно уступает по прочности нормальной связи между генами в наследственном аппарате как бактерии, так и фага. Вряд ли есть основания полагать, что связь наследственного вещества опухолеродного вируса со сложной нуклеопротеиновой хромосомой клетки животного окажется более стойкой.

Но может быть интеграция ведет к превращению вирусных генов в своеобразные «вирусные нуклеопротеины»?

У высших организмов в процессе эволюции возник специальный механизм, восстанавливающий целостность наследственного аппарата. Его так и называют репарационным. Он быстро реагирует на отклонения в структуре наследственного вещества, «вы-

резая» и устраняя из клеточной ДНК несвойственный ей субстрат. Трудно допустить, что этот механизм не сработал бы при включении в хромосому чужеродного вирусного наследственного вещества. Поэтому нам кажется маловероятным предполагаемое теорией онкогена включение онкорнавируса в наследственный аппарат клетки позвоночных на сотни миллионов лет. Значительно легче представить, что он находится в ядре на положении своеобразного «генетического симбионта». При инфекции, преодолев защитные силы организма (оболочки, антитела, интерферон) и попав в ядро, вирус в виде «голой» нуклеиновой кислоты удерживается в поле нуклеопротеиновой хромосомы, прикрытый здесь от многих разрушительных влияний. Клеточные репрессоры связываются с акцепторной зоной вирусных оперонов, препятствуя их функционированию.

Согласно нашей рабочей гипотезе, интеграция не является решающим моментом для превращения вирусом нормальной клетки в опухолевую. Как сказано выше, главное — это условия, благоприятствующие транскрипции вирусных генов, кодирующих белок с антиферментативной активностью в отношении ключевого фермента клеточного деления. При разрыве обратной связи фермента с наследственным аппаратом клетки в дальнейшем достаточно транскрипция с вирусных генов, «поддерживающих» опухолевое состояние.

Такой гипотезой мы руководствуемся в наших исследованиях, хотя она коренным образом расходится с господствующими взглядами. Но, как говорит Ф. М. Бернет, «для прогресса науки требуется непрерывное рождение новых гипотез, проверяемых в эксперименте».

Эксперимент и только эксперимент решит судьбу любой из гипотез и теорий о механизме превращения вирусом нормальной клетки в опухолевую.

НЕКОТОРЫЕ ИТОГИ

Книга закончена. Описаны главные факты и теории, которыми руководствуются ученые в поисках вируса рака. Сама проблема остается еще запутанной и сложной, допускающей противоречивые точки зрения, разнообразные подходы и направления исследований. Вирусы, химические канцерогены, облучение, которые мы то и дело используем в эксперименте, как и старение организма, всегда сопровождающее естественное течение жизни,— все эти факторы вместе и каждый в отдельности являются объектами изучения. Его пути то тесно соприкасаются, то расходятся далеко.

В качестве иллюстрации приведем высказывания двух американских ученых: главы американской школы онковирусологов Роберта Хюбнера и лауреата Нобелевской премии иммунолога Франка Макферлана Бернета.

«Хотя вирусная теория онкогена описывается как «невероятная спекуляция», или «неправдоподобная», или связанная с «исключительной интуицией», фактически главный повод выдвинуть ее заключался в том,— отмечает Хюбнер,— что она для нас была неизбежной. Она казалась нам единственным рациональным объяснением общей картины, созданной на основе новых экспериментальных данных и интенсивного изучения истории явного и скрытого носительства вирусов типа С в организме нормальных и раковых животных в природе...»

В корне отличный взгляд высказывает Бернет. «Мой прогноз в области онкологии довольно неортодоксален,— заявляет он.— Я считаю, что со временем будет выяснено, что в большинстве случаев рак связан с относительно высоким уровнем мутаций в теле. В настоящее время исходя из этих позиций я пишу теоретический труд о возрастной обусловленности заболеваемости раком. Это оставило бы за опухолеродными вирусами и химиче-

скими канцерогенами положение индукторов рака лишь в искусственных условиях лаборатории или в исключительных обстоятельствах у человека». Таким образом, один ученый ставит вирусы во главу угла всей проблемы, другой — отводит им более чем скромное место. Столь противоположны представления о причинах рака. Но и среди тех, кто признает вирусную теорию, нет единой точки зрения на механизм возникновения злокачественной опухоли. И хотя это обстоятельство — явный показатель недостаточности наших знаний, уровень, на котором ведутся теперь споры, значительно выше того, который был десять, даже пять лет назад.

Наука об опухолях развивается быстро и в разных направлениях. Огромную роль играют опыты на животных, используемых в качестве экспериментальной модели.

Сначала модельные опыты презрительно называли «мышиней возней», подчеркивая этим, что перебросить от них мост к раку человека невозможно: слишком уж велико расстояние от птицы или мыши до «венца творения» — *Homo sapiens*.

На страницах этой книги мы старались показать, как много ценного извлекли ученые из опытов на животных для поисков ракового агента у человека.

Подведем некоторые итоги.

У животных обнаружены фильтруемые опухоли, содержащие опухолеродный вирус в инфекционной форме, и нефилтруемые опухоли, в которых содержится только наследственное вещество вируса, но нет инфекционных частиц. Установлено, что отсутствие их связано с блокированием поздних генов вируса, ответственных за продукцию белков вирусной оболочки. Открыты такие явления, как структурная и функциональная дефектность опухолеродного вируса, гибридизация, транскрипция и другие формы взаимоотношений вирусов между собой. Выяснены особенности поведения вирусов в клетке при трансформации, роль мутантных форм, вирусов-помощников и клеток-помощников, круг хозяев паразита и его зависимость от «одежки», в которую облекся вирус. Добыты многочисленные сведения о форме, размерах, структуре, физических и химических свойствах частиц опухолеродных вирусов, особенностях их наследственного аппарата, представленного в одних случаях ДНК, в других — РНК, о способах репликации (удвоения) вирусного на-

следственного вещества в клетке и об участии в этом процессе ферментов. На основании этих данных выработаны разнообразные методы обнаружения опухолеродных агентов.

Сейчас мы знаем многие признаки, по которым можно не только выявить «следы» опухолеродного вируса, но и определить его групповую принадлежность и вид естественного хозяина. Характер и особенности нуклеиновой кислоты, антигенов и ферментов самого опухолеродного вируса, а также антигенов и ферментов, появляющихся и активирующихся под его влиянием в клетке,— все это взято на вооружение. Разработаны способы активации скрытого вируса с помощью химических канцерогенов, облучения, мутагенов, гормонов, веществ, подавляющих систему иммунитета.

Исследователи насчитывают в настоящее время более ста трансформирующих и опухолеродных агентов. Некоторые из них — виновники природных опухолей у птиц, мелких млекопитающих и обезьян. У ряда опухолеродных вирусов обнаружена способность трансформировать человеческие клетки. Однако естественно возникающие у человека опухоли нельзя связать ни с одним вирусом животного. Близкий контакт с домашними животными не отражается на количестве опухолевых заболеваний у людей. Это позволяет предполагать, что человек имеет свои опухолеродные вирусы.

Что сулит обнаружение агента (или агентов), с которыми причинно связано возникновение рака человека?

Во-первых, это несомненно позволит найти новые и более эффективные способы ранней диагностики злокачественных опухолей. Во-вторых, расширит возможности для разработки новых радикальных средств лечения. В-третьих, поможет точнее оценить значение факторов внешней и внутренней среды организма в развитии опухолевого процесса. В-четвертых, откроет перспективы для специфической профилактики рака.

Уже найден ряд «кандидатов» в вирусы рака человека, но их истинная природа и роль в возникновении злокачественных опухолей еще до конца не выяснены.

Предрешить все направления поисков невозможно. Комплекс условий, обеспечивающий скрытое состояние опухолеродного вируса в организме человека, возможно, своеобразен. В процессе эволюции и без того непростые

взаимоотношения опухолеродного вируса и организма могли усложниться; формы, в которых функционирует опухолеродный агент в клетке человека и животного, не обязательно в точности повторяют друг друга. Это, разумеется, осложняет дело.

Но тем не менее отправным пунктом в исследованиях останутся общие закономерности. Поэтому исследования по-прежнему пойдут двумя основными путями: первый — модельные опыты с опухолеродными вирусами животных, второй — выявление вирусов и вирусных продуктов, связанных с опухолевым ростом собственно у человека.

Наряду с чисто лабораторными исследованиями будут проводиться эпидемиологические, в том числе широкое изучение сывороток крови, которое поможет установить связь вирусов-кандидатов с определенными природными опухолями человека.

Как и предполагали много лет назад Л. А. Зильбер и ученые его школы, в опухоли содержатся антигены самого вируса, а также продукты, образуемые под его влиянием в клетке, на которые организм реагирует выработкой антител. Их будут изучать с помощью всех известных реакций иммунитета.

В книге отмечены лишь главные направления, тесно связанные с поисками вируса рака человека. Разумеется, общий план исследований неизмеримо шире. Достаточно сказать, что важное место займет разработка новых методов специфической профилактики и лечения рака, вытекающих из современных представлений о роли опухолеродных вирусов в его развитии. Уже испытываются ингибиторы обратной транскриптазы. Среди двухсот подобных веществ найдено несколько антибиотиков, которые задерживают рост опухолевых клеток. Это производные рифамицина, антибиотики из группы стрептоварицинов, дауномицин и другие, но точный механизм их действия еще не выяснен.

Выделение из онкорнавируса обратной транскриптазы в относительно чистом виде позволило получить антитела к ней, лечебное и профилактическое действие которых испытывается.

Интенсивно ведутся работы по выделению веществ-репрессоров РНК- и ДНК-содержащих опухолеродных вирусов, по стимуляции системы иммунитета организма и ее

ответа на опухолевые клетки, по использованию вакцины, интерферона и других защитных факторов.

Естественно, что успех специфических средств борьбы всецело зависит от наших знаний о механизме опухолеродного действия вируса и от обнаружения вируса рака человека.

Рак — бесспорно проблема экологическая, охватывающая сложные взаимозависимости, которые устанавливаются между организмом, вирусом и внешней средой. Наследственность, особенности системы иммунитета, стадии индивидуального развития, психические, физические и химические воздействия, инфекция — все эти факторы влияют на возникновение и развитие опухоли. Сейчас ученые «вычленяют» опухолеродные вирусы для детального их изучения как центрального звена в цепи развертывающихся событий. В недалеком будущем они, несомненно, перейдут к изучению проблемы в ее целостности, без дробления на отдельные части, во всех их естественных взаимосвязях. Только такой путь откроет широкие перспективы для профилактики рака.

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

- Антиген* — вещество, чаще всего белковой природы, которое, влияя на защитную систему организма, вызывает выработку антител.
- Ген* — единица наследственности, занимает в хромосоме определенное место и несет определенную функцию.
- Гомология нуклеиновых кислот* — наличие участков с одинаковой последовательностью азотистых оснований.
- Интеграция геномов* — включение одного генома в состав другого.
- Интерферон* — защитный белок, вырабатываемый клеткой в ответ на проникновение чужеродной нуклеиновой кислоты. Обладает способностью подавлять функции чужеродной нуклеиновой кислоты в клетке.
- Кроссинговер* — перекрестный обмен генетического материала между гомологичными парами хромосом.
- Лейкоз* — болезнь опухолевой природы, при которой поражена кроветворная ткань.
- Мутаген* — вещество, вызывающее изменения в наследственном аппарате — мутации.
- Мутант* — форма, претерпевшая мутацию. Передает новые приобретенные признаки своим потомкам.
- Мутации генные* — изменения, нарушающие структуру отдельных генов. Приводят к нарушению или полной утрате их функции. Передаются по наследству.
- Нуклеопротеид* — сложный белок, в состав которого входит нуклеиновая кислота.
- Обратная транскриптаза* — фермент, обеспечивающий синтез ДНК на матрице РНК.
- Онкорнавирусы* — РНК-содержащие опухолеродные вирусы.
- Папиллома* — доброкачественная опухоль, имеющая вид сосочка.
- Предраковое состояние, или предрак* — болезненный процесс, предшествующий началу злокачественного роста.
- Провирус* — ДНК-копия онкорнавируса.
- Реверсия* — процесс возврата опухолевой клетки к нормальному виду.
- Ревертант* — клетка, претерпевшая реверсию от трансформированного состояния к нормальному.
- Транскрипция* — синтез РНК на матрице ДНК с помощью фермента — ДНК-полимеразы.
- Трансляция* — синтез белков на рибосомах с участием информационной РНК, определяющей последовательность аминокислот в синтезируемом белке.

Трансформация опухолевая — изменение свойств клеток, сопровождающееся нарушением контроля над их ростом и делением.

Фиброма — доброкачественная опухоль из волокон соединительной ткани.

Фибросаркома — злокачественная опухоль из соединительнотканых клеток, волокнистого строения.

Хромосомы — особые образования, включающие факторы наследственности — гены. У высших форм состоят из ДНК и белка, у низших — только из нуклеиновой кислоты.

Стр. 7.

Гамалея Николай Федорович (1859—1949) — выдающийся советский микробиолог, почетный член Академии наук СССР. Ученый внес много нового в самые различные области микробиологии. Своими исследованиями чумы рогатого скота (1886) он предвосхитил открытие вирусов, показав, что фильтраты пораженной ткани вызывают болезнь. Его опыты по лизису бактерий явились преддверием к открытию бактериофага. Гамалея предсказал роль ультрамикробов в развитии злокачественных опухолей. На счету ученого усовершенствование пастеровского метода прививок против бешенства, открытие бактериолизина, обнаружение возбудителя холероподобного заболевания птиц, названного им Мечниковским вибрионом, изучение микробных ядов (токсинов), выяснение роли вшей в распространении сыпного тифа. Вместе с И. И. Мечниковым Гамалея организовал в Одессе бактериологическую станцию (1886), а позднее — бактериологический институт (1899). Борьба с туберкулезом, бешенством, чумой, холерой, оспой, сыпным и возвратным тифами, изучение проблемы гриппа и, наконец, злокачественных опухолей — вот далеко не полный перечень направлений его научной, организационной и практической деятельности. Н. Ф. Гамалея — лауреат Государственной премии СССР. Его именем назван крупнейший микробиологический институт в нашей стране.

Стр. 9.

Раус Пейтон (1879—1970) — всемирно известный американский ученый, открывший в 1911 г. вирус саркомы кур. Его исследование легло в основу представления о роли вирусов в происхождении злокачественных опухолей. Вирус Рауса широко используется в онкологии. Раус первым установил, что иммунитет к вирусу и к опухолевой клетке, возникшей под его влиянием, обусловлены различными механизмами. За работы по изучению рака ученый удостоен в 1966 г. Нобелевской премии.

Стр. 15.

Зильбер Лев Александрович (1894—1966) — выдающийся советский микробиолог, иммунолог и вирусолог, действительный член Академии наук СССР, на книгах которого по иммунологии и вирусологии воспитывалось целое поколение советских исследователей. Зильбер внес много нового в проблемы изменчивости микробов и иммунитета, описал ранее неизвестное заболевание — дальневосточный энцефалит, открыл его возбудителя и установил пути распространения. По инициативе ученого в 1935 г. была создана Центральная вирусологическая лаборатория, а позднее — вирусная лаборатория, положившая в основу своей деятельности

* Указатель к портретам (за исключением Б. Граффи, В. М. Жданова, Дж. Мельника, Дж. Молони, Г. Рубина, Я. Свободы).

изучение Природы злокачественных опухолей и иммунитета к ним. Проблеме рака Зильбер посвятил многие годы своей жизни. Его мечтой было создание эффективной вакцины. Блестящий оратор и пламенный пропагандист вирусной теории происхождения злокачественных опухолей, он привлек к себе много молодых ученых и создал научную школу, заслугой которой является открытие и изучение специфических антигенов в опухолях. Ученый установил (одновременно со Свет-Молдавским), что куриный опухолеродный вирус способен вызывать опухоли у млекопитающих. Это принципиальной важности открытие разбило устоявшийся взгляд, согласно которому опухолеродным вирусам приписывали строгую видовую специфичность. Зильбер — создатель вирусо-генетической теории рака, дважды лауреат Государственной премии СССР.

Стр. 19.

Гросс Людвик (1904) — американский исследователь, член Нью-Йоркской Академии наук. Ученый первым доказал, что лейкоз мышей вызывается вирусом и что вирус передается «вертикально» от матери — потомству, установил наличие вируса при лейкозе мышей, вызванном облучением, и обнаружил вирус опухолей околоушных желез у мышей, позднее ставший известным как вирус полиомы мышей. Труд Гросса «Онкогенные вирусы» — важное пособие для онковиролога.

Стр. 21.

Дмоховский Леон — американский ученый, член Нью-Йоркской Академии наук. Один из пионеров электронномикроскопического изучения опухолей. Обнаружил характерные вирусные частицы при раке молочных желез и при лейкозе мышей. Широкую известность получили его поиски вирусов при лейкозе, раке груди, саркоме костей и других опухолей человека и участие в выделении вируса ESP-1.

Стр. 37.

Стюарт Сара — американская исследовательница, которой (совместно с Эдди) принадлежит заслуга выделения в культуре ткани вируса полиомы. Большой интерес представляют проведенные ею в последние годы опыты по активации и обнаружению вирусных агентов в опухолях человека.

Стр. 37.

Эдди Берник — американская исследовательница, выделившая в культуре ткани (совместно со Стюарт) вирус полиомы мышей. К числу открытий первостепенной важности относится установление ею опухолеродности обезьяньего вируса ОВ40, встречающегося в нормальных клетках обезьян, которые используются для приготовления вакцин. Данные Эдди показали актуальность проблемы загрязнения вирусных вакцин скрытыми опухолеродными агентами.

Стр. 42.

Мельник Джозеф (1914) — видный американский вирусолог. Внес большой вклад в изучение ДНК-содержащих опухолеродных вирусов и механизмов их опухолеродного влияния.

Стр. 49.

Дульбекко Ренато (1914). Известный вирусолог, член Национальной Академии наук (США) и Американской Академии искусств и наук. Ученый разработал ряд методов, широко используемых для изучения ДНК-содержащих опухолеродных вирусов (метод бляшек, трансформация клеток в культуре ткани) и выяснил многие стороны молекулярных взаимоотношений вируса и клетки (интеграция вирусной ДНК с клеточной, подавление синтеза ДНК клетки, транскрипция в трансформированной клетке только части вирусных генов и т. д.).

Стр. 68.

Дюран-Рейнальс Франциско (1899—1958). Известен многими оригинальными исследованиями в области биологии. Ему принадлежит заслуга открытия «фактора распространения» и выяснения его роли при инфекции и интоксикации. Ученый показал, что этот фактор, влияющий на проницаемость соединительной ткани (его называют также «фактором Дюран-Рейнальса»), неодинаково представлен в тканях у молодых и старых животных, и с успехом использовал это наблюдение в своих онкологических исследованиях. Установив большую чувствительность к вирусу Рауса только-что вылупившихся цыплят и утят, а также зародышей птиц по сравнению со взрослыми птицами, он выявил, что опухолеродный вирус вызывает у однодневных цыплят заболевание неопухолевого характера. Дюран-Рейнальс высказал мысль, что, поскольку опухолеродные вирусы могут вести себя подобно инфекционным, не исключено и обратное: наличие у инфекционных вирусов способности вызывать опухоли. Эту идею он стал горячо пропагандировать и для ее обоснования предпринял широкие опыты с вирусом оспы. Но в разгаре этой работы его сразила та самая болезнь — злокачественная опухоль, изучением которой он занимался.

Стр. 68.

Трентин Джон — американский вирусолог, первым установивший опухолеродные свойства у одного типа аденовируса человека. Это открытие побудило ученых к широким исследованиям проблемы опухолеродности инфекционных вирусов. Необходимо отметить участие Трентина в выделении С-типа онкорнавируса хомяка с дефектом обратной транскриптазы и отсутствием биологической активности: опухолеродности и инфекционности.

Стр. 72.

Грин Маурик (1926) — американский исследователь, директор

Института молекулярной вирусологии в Сан-Луи (Миссури, США). Ученому принадлежит заслуга очистки и характеристики 31-го типа аденовирусов человека, выяснение многих закономерностей функционирования опухолеродных вирусов в клетке на молекулярном уровне. Последние работы Грина посвящены получению веществ — производных рифамицина, направленных против обратной транскриптазы лейкозных и саркоматозных вирусов.

Стр. 76.

Абелев Гарри Израилевич (1928) — советский биохимик и иммунохимик, руководитель отдела иммунохимии и диагностики рака в Институте эпидемиологии и микробиологии Академии медицинских наук СССР имени Н. Ф. Гамалея в Москве. Абелев первым обнаружил эмбриональный антиген в опухоли печени — открытие принципиальной важности. Ученый выяснил биохимические и иммунохимические особенности антигена и на этой основе разработал метод для клинического диагноза и прогноза ряда раковых опухолей человека. Книга «Вирусология и иммунология рака», написанная ученым совместно с Зильбером, широко используется онковирологами.

Стр. 87.

Бэркит Денис (1911) — английский хирург, привлечший внимание ученых всего мира к лимфоме африканских детей, названной «лимфомой Бэркита». За свои исследования в Африке избран почетным членом многих научных обществ и удостоен наград в разных странах.

Стр. 89.

Эпштейн Мишель Антони (1921) — английский патолог и вирусолог, возглавляет отдел патологии в университете в Бристоле. Обнаружил вирус в клетках лимфомы Бэркита, принадлежащий к вирусам группы герпеса, исследовал его взаимоотношения с клетками. Этот вирус, названный вирусом Эпштейна — Барр (по имени ученого и его ассистентки Барр) — один из кандидатов в вирусы опухолей человека. Этим открытием ученый стимулировал изучение роли вирусов герпеса в возникновении злокачественных заболеваний у людей. В настоящее время продолжает работать над проблемой: вирусы герпеса и рак человека.

Стр. 95.

Рэпп Фред (1929) — американский вирусолог, возглавляющий кафедру микробиологии медицинского факультета Пенсильванского университета (США). Основные исследования посвящены ДНК-содержащим опухолеродным вирусам: их дефектности, отношению опухолевого Т-антигена к геному вируса ОВ40, свойствам ПАРА-вирусов. Работа ученого в последние годы главным образом концентрируется вокруг вопроса о роли вирусов в развитии рака у человека. Принципиальное значение имеют его данные о выявлении трансформирующих и опухолеродных свойств

у вируса простого герпеса типа 1 и 2, а также у вируса человека, называемого цитомегаловирусом.

Стр. 97.

Биггс Питер (1926) — английский ученый, внесший своими трудами большой вклад в изучение болезни Марека, которая приносит колоссальный урон птицеводству. Главные достижения ученого: выделение болезни Марека как особого заболевания кур, вызываемого ДНК-содержащим вирусом из группы герпеса, получение устойчивых к возбудителю пород кур и эффективной вакцины. В настоящее время усилия ученого направлены на изучение эпидемиологии болезни Марека, а также биологических и антигенных свойств ее возбудителя.

Стр. 105.

Темин Говард (1934) — американский вирусолог, профессор онкологии университета в Висконсине. Посвятил свои исследования РНК-содержащим опухолеродным вирусам. Разработал вместе с Рубином ряд методов их количественного определения, которые помогли изучить эту группу вирусов. Выдвинул на основании полученных им экспериментальных данных теорию провируса, предполагающую перенос генетической информации с РНК к ДНК. Подтверждением возможности подобного переноса явилась его работа о наличии в составе онкорнавируса фермента, обеспечивающего обратную транскрипцию. Открытие обратной транскриптазной активности в нормальных клетках привело Темина к созданию новой теории — теории протовируса. Она предполагает, что обратная транскрипция играет роль в нормальном развитии и лишь ее нарушение приводит к появлению «опухолевых» генов. В настоящее время Темин работает над экспериментальным подтверждением своей теории.

Стр. 105.

Балтимор Дэвид (1938) — американский ученый, профессор микробиологии Массачусетского технологического института в Кембридже. Ряд его работ касается молекулярных механизмов опухолевого превращения. Выдающимся достижением ученого является выделение фермента — обратной транскриптазы из онкорнавируса, проведенное независимо от Темина.

Стр. 106.

Балуда Марсель (1930) — американский вирусолог, профессор вирусологии Калифорнийского университета в Лос-Анжелосе. Приобрел известность своими трудами о вирусах лейкоза птиц. В настоящее время изучает структуру и функционирование наследственного аппарата лейкозного вируса и отдельных его компонентов, механизм активации и репрессии вирусных генов в разных условиях взаимодействия вируса и клетки (интегрированный и неинтегрированный геном), влияние на транскрипцию места включения вирусной ДНК в клеточную и другие вопросы молекулярных взаимоотношений вируса и клетки при трансформации.

Стр. 118.

Свобода Ян — видный онковирусолог Чехословакии. Посвятил свои исследования онкорнавирусам.

Стр. 122.

Рубин Гарри (1926) — американский вирусолог, широко известный своими работами по изучению онкорнавирусов и механизмов их действия на клетку.

Стр. 124.

Свет-Молдавский Георгий Яковлевич (1928) — советский вирусолог и иммунолог, заведующий лабораторией вирусологии в Институте экспериментальной и клинической онкологии Академии медицинских наук СССР в Москве. Его оригинальные исследования внесли много нового в науку о вирусах и об иммунитете (особенно в онковирусологию и противоопухолевый иммунитет). Ученый использовал введение в опухоль чужеродных для организма вирусных антигенов для усиления защитной реакции организма на опухоль. Этот феномен, описанный им под названием «гетерогенизации опухоли», положен им, наряду с другими данными по иммунитету к опухолям, в основу разработки новых методов лечения рака человека. Выдающееся значение приобрело его открытие у птичьего опухолеродного вируса способности поражать млекопитающих, за которое Свет-Молдавский разделил с Зильбером Государственную премию СССР.

Стр. 124.

Ханафуза Хидесабуро (1929) — профессор Рокфеллеровского университета в Нью-Йорке. Основные исследования посвящены онкорнавирусам, в отношении которых ученому, во многих случаях совместно с его женой Теруко Ханафуза, удалось установить ряд фактов фундаментального значения (дефектность, роль вирусов-помощников, наличие вирусов-мутантов с дефицитом обратной транскриптазы, присутствие вирусных генов в нормальных клетках кур и др.).

Стр. 128.

Граффи Арнольд — видный немецкий ученый ГДР. Выделил опухолеродные вирусы у мышей и хомяков. Внес своими исследованиями большой вклад в онковирусологию.

Стр. 128.

Молони Джон — американский вирусолог, на счету ученого обнаружение вирусов лейкоза и саркомы мышей. Главная сфера его исследований — онкорнавирусы.

Стр. 128.

Мазуренко Николай Петрович (1918) — советский вирусолог,

заведующий лабораторией вирусологии лейкозов в Институте экспериментальной и клинической онкологии Академии медицинских наук СССР в Москве. Принципиальное значение имело исследование ученого, в котором он показал возможность активации скрытого лейкозного вируса путем инфекции оспенным вирусом. Мазуренко принадлежит также открытие и всестороннее изучение нового вируса лейкоза мышей, который назван его именем.

Стр. 128.

Френд Шарлотта — американская исследовательница, член Нью-Йоркской Академии наук, директор Центра по экспериментальной биологии клетки в Нью-Йорке. Получила известность своими работами по выделению нового вируса лейкоза мышей из перевиваемой раковой мышинной опухоли. Ей принадлежит детальное изучение заболевания, вызываемого этим вирусом («вирус Френд»). В центре внимания Френд в настоящее время находятся механизмы, препятствующие проявлению вирусной опухолеродности и выяснение связи между дифференциацией и злокачественностью.

Стр. 143.

Спигельман Сол (1914) — американский микробиолог, профессор генетики Колумбийского университета, член Национальной академии наук и Американской академии искусств и наук. Известен своими статьями по клеточной физиологии, генетике, биологии развития и молекулярной биологии. Внес большой вклад в изучение онкорнавирусов и их возможной роли при опухолях человека.

Стр. 147.

Мак Аллистер Роберт (1922) — американский вирусолог, профессор педиатрии медицинского факультета университета в Южной Калифорнии (США). Основные работы в области онковирусологии посвящены изучению роли аденовирусов в развитии рака и природе выделенного им вместе с группой ученых онкорнавируса РД-114. В этих исследованиях установлен большой важности факт: активация скрытых опухолеродных вирусов животных при введении им опухолевых клеток человека.

Стр. 149.

Жданов Виктор Михайлович (1914) — действительный член АМН СССР, директор Института вирусологии им. Д. И. Ивановского АМН СССР. Крупный организатор советского здравоохранения и науки, эпидемиолог и вирусолог. В последние годы включился в изучение онковирусологических проблем. При его непосредственном участии из клеточных линий в культуре ткани выделены кандидаты в вирусы рака человека.

Стр. 151.

Лапин Борис Аркадьевич (1921) — советский исследователь, заслуженный деятель науки Абхазской ССР, действительный член АМН СССР, директор Института экспериментальной патологии и терапии Академии медицинских наук СССР в Сухуми. Лапин — участник двух больших экспедиций: по изучению обезьян в джунглях Вьетнама и лимфомы Бэркита в Нигерии. Возглавляемый им научный коллектив дал развернутый эпидемиологический анализ вспышки лейкоза у обезьян в Сухумском питомнике и установил связь между развитием заболевания и контактом с обезьянами, подвергшимися прививке лейкозной крови человека. Лапину удалось выделить от больных обезьян вирусные частицы типа С, сходные по всем свойствам с онкорнавирусами. Эти исследования, представляющие огромный интерес, продолжаются.

Стр. 158.

Бернет Франк Макферлан (1899) — австралийский ученый, вирусолог и иммунолог, лауреат Нобелевской премии, хорошо известен в нашей стране своими оригинальными работами по генетике вируса гриппа, природе вирусов и иммунитету. Многие идеи Бернета явились важными вехами в развитии биологических знаний. В области рака ученый создал теорию, согласно которой старение организма, сопровождающееся ослаблением его защитных сил и высоким уровнем мутаций, является решающим фактором в развитии рака. В последние годы Бернет опубликовал две книги, отражающие его интерес к столь актуальной сейчас проблеме «наука и общество» («Меняющийся образец» и «Господствующее млекопитающее»).

Стр. 161.

Хьюбнер Роберт (1914) — один из ведущих американских онко-вирусологов, член Национальной Академии наук, возглавляет отделение вирусного канцерогенеза в Национальном раковом институте в Бетезде (США). Ученому принадлежат фундаментальной важности открытия: обнаружение опухолевого Т-антигена и группоспецифического антигена онкорнавирусов, а также создание очень популярной теории онкогена. В настоящее время под его общим руководством происходит накопление экспериментальных данных для ее подтверждения.

ЛИТЕРАТУРА¹

- * *Абелев Г. И.* Еще один шаг к разгадке тайны рака. Наука и жизнь, 1971, № 1.
- Агеев А. И.* Вирусный канцерогенез. М., 1969.
- * *Георгиев Г. П.* Структура оперона и некоторые аспекты рака. Природа, 1971, № 3.
- * *Гершензон С. М.* Ревертаза, генетика и рак. Природа, 1973, № 7.
- Голубев Д. Б. и Шляпкевич М. А.* Современные аспекты вирусной теории происхождения злокачественных новообразований. Л., 1972.
- * *Гохлернер Г.* Нуклеиновые кислоты, вирусы и эволюция. Наука и жизнь, 1972, № 10.
- * *Жданов В. М.* В мире вирусов. Наука и жизнь, 1973, № 8.
- Жданов В. М., Гайдамович С. Я.* Вирусология. М., 1966.
- Зильбер Л. А.* Вирусно-генетическая теория рака. М., 1968.
- Зильбер Л. А., Абелев Г. И.* Вирусология и иммунология рака. М., 1962.
- * *Киселев Л. Л.* Старые теории — новые открытия. Наука и жизнь, 1971, № 12.
- Парнес В. А., Левина Д. М., Рапопорт И. А.* Вирусный онкогенез и мутагенез. В кн. «Проблемы лейкоза». Рига, 1968.
- Рапопорт И. А., Парнес В. А., Левина Д. М.* Ферментная регуляция пластичности организма и канцерогенез. Патол. физиология, 1970, № 5.
- * *Сойфер В.* Регуляция активности генов. Наука и жизнь, 1971, № 6.
- * *Темин Г.* РНК направляет синтез ДНК. Природа, 1972, № 9.

¹ Звездочкой помечены научно-популярные работы.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Немного истории	5
Вирус и опухоль	14
Что мы знаем о вирусах	22
Тайное убежище вируса	36
Опасны ли дефектные и убитые вирусы	50
Вирус меняет жизнь клетки	54
Интеграция вируса и трансформация клетки	63
Грани между вирусами стираются	67
Существует ли ген опухолеродности?	77
Взаимодействие вирусов	82
Вирус герпеса — ЭБВ	84
Еще о вирусе герпеса	93
Решающее открытие	100
Онкорнавирусы	108
«Хозяева» онкорнавируса	116
Вирус-помощник	120
Клетка-помощник	125
Опухолеродные вирусы домашних животных	130
Вирусные опухоли у обезьян	136
Вирусы и рак человека	140
Теория онкогена	155
Теория протовируса	164
Рабочая гипотеза	168
Некоторые итоги	176
Словарь терминов	181
Биографический указатель	183
Литература	191

Вера Аркадьевна Парнес

В ПОИСКАХ ВИРУСА РАКА

Утверждено к печати

редколлегией серии научно-популярных изданий

Академии наук СССР

Редактор издательства В. Н. Вяземцева

Художник В. А. Хлебников

Художественный редактор В. Н. Тикун

Технический редактор В. Д. Прилепская

Корректоры Е. Н. Белоусова, М. В. Борткова

Сдано в набор 26/X-1973 г.

Подписано к печати 6/III-1974 г. Формат 84×108^{1/32}

Бумага № 2. Усл. печ. л. 10,08. Уч.-изд. л. 9,9.

Тираж 50 000. Т-01766. Тип. зак. 3115

Цена 60 коп.

Издательство «Наука», 103717 ГСП,

Москва, К-62, Подсосенский пер., 21

2-я типография издательства «Наука», 121099,

Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

60 коп.



ИЗДАТЕЛЬСТВО

«НАУКА»

ГОТОВИТСЯ К ПЕЧАТИ

КНИГА:

МУХАЧЕВ Д. М.

**Ключи к живой воде. 12 л.
80 к.**

В книге кандидата химических наук В. М. Мухачева рассказывается о биологическом действии дейтерия — тяжелого изотопа водорода. В результате обменных процессов с космосом содержание дейтерия на нашей планете увеличивается. В связи с этим автор рассматривает эволюцию жизни на Земле как процесс непрерывного приспособления организмов к повышающемуся воздействию дейтерия. Приведены данные, показывающие, что снижение содержания дейтерия в воде интенсифицирует жизненные процессы и может иметь большое значение для медицины и сельского хозяйства.

Книга рассчитана на широкий круг читателей.

Для получения книги почтой заказы просим направлять по адресу:

**МОСКВА, В-463, Мичуринский
проспект, 12, магазин «Книга—
почтой» Центральной конторы
«Академкнига»;**

ЛЕНИНГРАД, П-110, Петрозаводская ул., 7, магазин «Книга—почтой» Северо-Западной конторы «Академкнига» или в ближайшие магазины «Академкнига».

Адреса магазинов «Академкнига»:

Алма-Ата, ул. Фурманова, 91/97; Баку, ул. Джапаридзе, 13; Днепропетровск, проспект Гагарина, 24; Душанбе, проспект Ленина, 95; Иркутск, 33, ул. Лермонтова, 303; Киев, ул. Ленина, 42; Кишинев, ул. Пушкина, 31; Куйбышев, проспект Ленина, 2; Ленинград, Д-120, Литейный проспект, 57; Ленинград, Менделеевская линия, 1; Ленинград, 9 линия, 16; Москва, ул. Горького, 8; Москва, ул. Вавилова, 55/7; Новосибирск, Академгородок, Морской проспект, 22; Новосибирск, 91, Красный проспект, 51; Свердловск, ул. Мамина-Сибиряка, 137; Ташкент, Л-29, ул. Ленина, 73; Ташкент, ул. Шота Руставели, 43; Томск, наб. реки Ушайки, 18; Уфа, Коммунистическая ул., 49; Уфа, проспект Октября, 129; Фрунзе, бульвар Дзержинского, 42; Харьков, Уфимский пер., 4/6.